

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUM
EINFLUSS VON T-2 TOXIN, EINEM
TRICHOHECEN-MYKOTOXIN, AUF DIE FUNKTION
DES DÜNNDARMS DER RATTE

Gabriele Rieß

1987

Disbui. München



**Aus dem Walther-Straub-Institut für Pharmakologie und
Toxikologie der Ludwig-Maximilians-Universität München
Vorstand: Professor Dr. med. Wolfgang Forth**

**Tierexperimentelle Untersuchungen zum Einfluß
von T-2 Toxin, einem Trichothecen-Mykotoxin, auf
die Funktion des Dünndarms der Ratte**

**Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München**

**vorgelegt von
Gabriele Rieß
aus Hagen
1987**

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. W. Forth

Mitberichterstatter: Prof. Dr. rer. nat. A. Bauernfeind

Prof. Dr. med. A. Baethmann

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. rer. nat. G. Strugala

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h. c. W Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 3. Dezember 1987

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Zusammenfassung.....	1
2. Einleitung und Problemstellung.....	3
3. Ergebnisse.....	6
3.1 Die Transportleistungen des isolierten Dünndarmes der Ratte in vitro nach direkter Zugabe von T-2 Toxin zur Perfusionsflüssigkeit.....	6
3.2 Beeinflussung von Transportprozessen am isolierten Dünndarm nach Vorbehandlung der Ratte mit T-2 Toxin...	13
3.2.1 Effekte am Jejunum.....	15
3.2.2 Effekte am Ileum.....	26
3.3 Intestinaler Metabolismus von T-2 Toxin.....	33
4. Diskussion.....	38
4.1 Methodisch-kritische Vorbemerkungen.....	38
4.2 Zur Wirkung von T-2 Toxin auf die Wasser-, Elektrolyt- und Glucoseresorption.....	40
4.2.1 Zur direkten Wirkung von T-2 Toxin.....	40
4.2.2 Zur Wirkung von T-2 Toxin nach einmaliger Vorbehandlung der Ratte.....	41
4.3 Zur metabolischen Umwandlung von T-2 Toxin.....	46
5. Material und Methoden.....	48
5.1 Material.....	48
5.1.1 Versuchstiere.....	48
5.1.2 Substanzen.....	48
5.2 Methoden.....	49
5.2.1 Präparation der Darmsegmente.....	49

5.2.2	Perfusion.....	50
5.3	Versuchsdurchführung.....	53
5.3.1	Bestimmung der Rektaltemperatur.....	55
5.4	Analytische Methoden.....	57
5.4.1	Glucosebestimmung.....	57
5.4.2	Elektrolytbestimmung.....	57
5.4.3	pH-Wertbestimmung.....	57
5.4.4	Radioaktivitätsbestimmung.....	58
5.4.5	Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC).....	58
5.5	Statistische Methoden.....	60
6.	Literaturverzeichnis.....	61
7.	Tabellenanhang.....	65

Vorwort

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von November 1983 bis Mai 1985 am Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München angefertigt.

Dem Vorstand des Institutes, Herrn Professor Dr. med. Wolfgang Forth, danke ich für die interessante Themenstellung sowie die großzügige Förderung meiner Arbeit.

Mein Dank gilt weiter Herrn Dr. rer. nat. G. J. Strugala für die wohlwollende Betreuung und die vielfältigen Ratschläge, Frau Margit Jourdan für die sehr gute und äußerst gewissenhafte Mitarbeit bei der Durchführung der Experimente und all den Mitarbeitern des Institutes, die zum Gelingen dieser Arbeit beitrugen.

München, im Juli 1987



1. Zusammenfassung

Der Einfluß von T-2 Toxin auf die intestinale Resorption von Wasser und Elektrolyten sowie D-Glucose wurde in vitro an isoliert perfundierten, nicht durchbluteten Jejunum- und Ileumsegmenten der Ratte nach der Methode von Fisher und Parsons (1949), modifiziert durch Richter und Strugala (1985) geprüft.

In der ersten Versuchsserie wurde T-2 Toxin der Perfusionslösung in einer Konzentration von 1 bis 100 $\mu\text{mol/l}$ direkt zugesetzt und die unidirektionale Wasser- und Elektrolytbewegung sowie der Glucosetransfer von der Mucosa- zur Serosaseite über zwei Stunden verfolgt. In einer zweiten Versuchsserie wurden die Tiere zwölf Stunden vor Versuchsbeginn intravenös (0,25 bis 1,5 mg/kg Körpergewicht) oder per os (0,5 bis 3,0 mg/kg Körpergewicht) vorbehandelt und danach die Darmsegmente entsprechend dem Vorgehen in der ersten Versuchsreihe über zwei Stunden perfundiert.

Die Ergebnisse zeigen, daß in vitro zugesetztes T-2 Toxin innerhalb einer Versuchsdauer von zwei Stunden keinen Einfluß auf die Resorption der geprüften Parameter nimmt. Dagegen beobachtet man zwölf Stunden nach einmaliger Vorbehandlung der Ratte mit T-2 Toxin deutliche Veränderungen der Funktion des Dünndarmes. Diese Veränderungen erweisen sich als abhängig sowohl vom untersuchten Dünndarmabschnitt als auch von der Dosis jedoch als unabhängig von der Art der Applikation.

Im proximalen Jejunum ist der transepitheliale Glucosetransfer nach intravenöser wie peroraler Vorbehandlung bis zu 60 Prozent gegenüber den Kontrollen eingeschränkt. Auch die Resorption von Wasser und Natriumionen ist - zumindest bei Applikation hoher Dosen - sowohl nach parenteraler als auch nach oraler Gabe - beeinträchtigt.

Im Ileum findet sich nach peroraler Vorbehandlung kein Effekt bezüglich der Resorption von Wasser, Elektrolyten und Glucose, während nach intravenöser Gabe bei der niedrigsten geprüften T-2 Toxindosis (0,25 mg/kg Körpergewicht) eine deutliche Steigerung des Glucosetransfers zu verzeichnen ist.

Die Kaliumionenkonzentration auf der Serosaseite steigt im Jejunum und Ileum unabhängig von der Art der Applikation dosisabhängig an.

In einer dritten Versuchsreihe wurde mittels hochdruckflüssigkeitschromatographischer Analyse von Perfusat- und Resorbatproben und nachfolgender Radiodetektion ermittelt, ob und inwieweit in vitro zugesetztes α -(3-³H)-T-2 Toxin während des Durchtrittes durch die Darmwand metabolisiert wird.

Die Untersuchungen zeigen, daß unverändertes T-2 Toxin in nur unwesentlichen Mengen die Serosaseite des Darmes erreicht. Als Hauptstoffwechselprodukte entstehen hydrophilere Metaboliten.

2. Einleitung und Problemstellung

Trichothecene sind in der Natur vorkommende, biologisch aktive Stoffwechselprodukte, die von verschiedenen Fungi imperfecti wie Fusarium, Trichoderma, Cephalosporium und Stachybotrys gebildet werden (Ueno, 1984). Ihr Name leitet sich ab vom Trichothecin, das als erste dieser Verbindungen durch Freeman und Morrison (1948) aus einer Kultur von Trichothecium roseum als Reinsubstanz isoliert wurde.

Parasitär können diese toxinbildenden Schimmelpilze auf Mais, Reis und anderen Getreidearten, vorzugsweise in Biotopen mit hoher Luftfeuchtigkeit, nachgewiesen werden.

Bereits im vergangenen Jahrhundert wurden Vergiftungsfälle bei Mensch und Tier beschrieben, die eine Kontamination von Lebens- und Futtermitteln mit Trichothecenen vermuten lassen (Woronin, 1891).

Aus den vierziger Jahren, als die Trichothecene in England entdeckt wurden, berichtet Joffe (1974, 1978) über das endemische Auftreten einer Krankheit in der U.d.S.S.R., die bis dahin unter dem Namen der " alimentären toxischen Aleukie " bekannt war und höchstwahrscheinlich dem Verzehr fusarienbefallenen Getreides zugeschrieben werden muß. Im Vordergrund des zu beobachtenden Symptomenkomplexes stehen Erbrechen, Durchfall und Schädigung des hämatopoetischen Systems (Ueno, 1984).

Nur drei Arbeiten befassen sich bislang mit der Wirkung der Trichothecene auf die Funktion des Gastrointestinaltraktes. Matsuoka und Kubota (1981,1982) beobachteten neben einem makroskopisch sichtbaren, luminalen Farbstoffaustritt nach intraperitonealer Injektion von Fusarenon-X am evertierten Rattendarm eine Erhöhung der Transportrate für D-Xylose und leiteten daraus eine gesteigerte Permeabilität der Darmwand ab. Suneja et al. (1984) beschrieben nach oraler Verabreichung von T-2 Toxin eine Minderung der D-Glucose- und L-Tryptophanresorption sowie eine Beeinträchtigung der intestinalen Bürstensaumenzyme Sucrase, Lactase und Na^+/K^+ -ATPase.

Vor dem Hintergrund der nach Ingestion T-2 Toxin-kontaminierter Nahrung auftretenden, massiven Diarrhoe war es das Ziel der vorliegenden Arbeit, den Einfluß von T-2 Toxin, einem Hauptvertreter aus der Gruppe der Trichothecene, der erstmals durch Bamburg et al. (1968) isoliert wurde, auf die intestinale Resorption von Wasser und Elektrolyten sowie D-Glucose zu untersuchen.

Die Experimente wurden an isoliert durchströmten Darmsegmenten der Ratte nach der von Richter und Strugala (1985) beschriebenen Modifikation der Methode von Fisher und Parsons (1949) durchgeführt. In zwei unterschiedlich konzipierten Versuchsreihen sollte das Ausmaß der T-2 Toxinschädigung in Abhängigkeit von der Dosis und der Art der Applikation geprüft werden.

In der ersten Versuchsreihe wurde T-2 Toxin direkt der Perfusionslösung in einem Konzentrationsbereich von 1 bis 100 $\mu\text{mol/l}$ zugesetzt und der Einfluß auf die Transportprozesse des Dünndarmes anhand des transepithelialen Durchtrittes von Wasser, Glucose und Elektrolyten von der Mucosa- zur Serosaseite ermittelt, ohne die Ratten selbst einer Toxinvorbehandlung zu unterziehen.

In einer zweiten Versuchsreihe erhielten die Tiere zwölf Stunden vor Versuchsbeginn T-2 Toxin intravenös oder peroral verabreicht. Basierend auf der vorausgegangenen Bestimmung der intravenösen und oralen LD_{50} (Tremel und Fichtl, 1985) wurden dabei jeweils vier Dosen unterhalb bis nahe des letalen Wirkspiegels gewählt, der intravenös bei etwa 0,7 und oral um 4,0 mg/kg Körpergewicht lag. Nach zwölf Stunden wurden die Darmsegmente analog dem Vorgehen in der ersten Versuchsreihe entnommen, in die Perfusionsapparatur eingebracht und ebenso die Resorption von Wasser, Natrium, Kalium und Glucose geprüft. In diesem Fall enthielt die Perfusionslösung selbst kein T-2 Toxin.

Um darüber hinaus abzuschätzen, ob und inwieweit T-2 Toxin während des Translokationsvorganges durch die Darmwand einer metabolischen Veränderung im Sinne eines präsystemischen first pass-Effektes unterliegt und damit der Darm neben der Leber als mögliches Stoffwechselorgan in Betracht zu ziehen ist, wurde sowohl die zur Serosaseite durchgetretene Flüssigkeit, im folgenden als Resorbat bezeichnet, als auch die Perfusionslösung selbst (Perfusat) unter Einsatz der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) analysiert.

3. Ergebnisse

3.1 Die Transportleistungen des isolierten Dünndarmes der Ratte in vitro nach direkter Zugabe von T-2 Toxin zur Perfusions- flüssigkeit

In der ersten Versuchsreihe wurde die Wirkung von T-2 Toxin auf die Resorption von Wasser, Elektrolyten (Natrium, Kalium, Calcium) und Glucose an isoliert durchströmten, nicht durchbluteten Jejunum- und Ileumsegmenten der Ratte untersucht werden. Die Perfusion erfolgte nach der Methode von Fisher und Parsons (1949), modifiziert durch Richter und Strugala (1985).

T-2 Toxin wurde dem Inkubationsmedium direkt in einem Konzentrationsbereich von 1 bis 100 $\mu\text{mol/l}$ in der oberen Kammer der Ganzglasperfusionseinheit nach Richter und Strugala (1985) zugesetzt (Abb. 16) und der Durchtritt von Wasser, Natrium, Kalium und Calcium sowie Glucose von der Mucosa- zur Serosaseite des Dünndarmes geprüft. Die Perfusionsdauer betrug jeweils 120 Minuten bei 37°C und einem konstanten pH-Wert des Inkubationsmediums zwischen 7,2 und 7,4 (Strugala und Forth, 1984).

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in der Tabelle I zusammengefaßt und in den Abbildungen 1 bis 5 graphisch dargestellt.

Abbildung 1 verdeutlicht die unter T-2 Toxineinwirkung erzielte unidirektionale Wasserbewegung von der Mucosa- zur Serosaseite des untersuchten Darmabschnittes. Bietet man im Perfusat T-2 Toxin in steigenden Konzentrationen an und bestimmt anschließend die innerhalb einer Stunde resorbierte Wassermenge pro cm Darmlänge, wird deutlich, daß in vitro zugesetztes T-2 Toxin keinen Einfluß auf die transmurale Wasserpermeation besitzt. Diese Feststellung läßt sich gleichermaßen für das obere Jejunum wie für das Ileum treffen.

Auch der Transfer der Elektrolyte Natrium, Kalium und Calcium sowie der Glucosetransport laufen unter den einführend genannten Versuchsbedingungen nahezu ungehindert ab. Da sich weder im Jejunum noch im Ileum innerhalb des geprüften Konzentrationsbereiches von 1 bis 100 $\mu\text{mol/l}$ statistisch signifikante Unterschiede zu den entsprechenden Kontrollen ergeben, sind in den Abbildungen 2 bis 5 stellvertretend für die untersuchten Darmabschnitte lediglich die Ergebnisse am proximalen Jejunum der Ratte dargestellt.

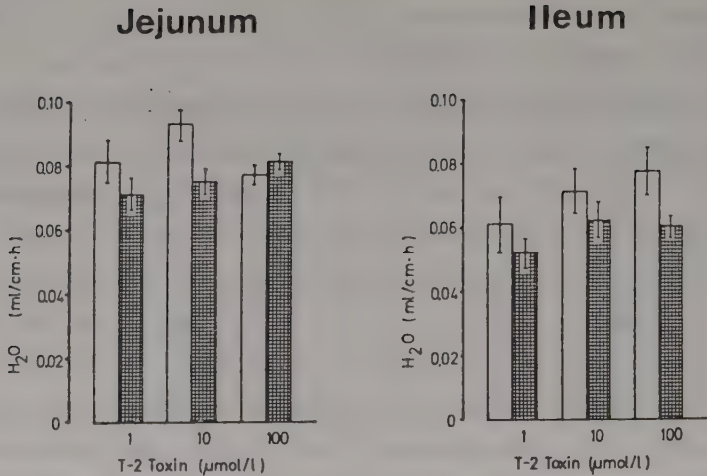


Abb. 1

Einfluß von T-2 Toxin auf die unidirektionale Wasserbewegung von der Mucosa- zur Serosaseite

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten , Temperatur: 37°C

T-2 Toxin wurde zu Beginn dem Inkubationsmedium in einer Konzentration von 1 bis 100 µmol/l zugegeben (gerasterte Säulen). Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle.

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 6 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$). (s. Tab. I im Anhang)

Ordinate: resorbierte Wassermenge in ml/cm Darm und Stunde (h)

Jejunum

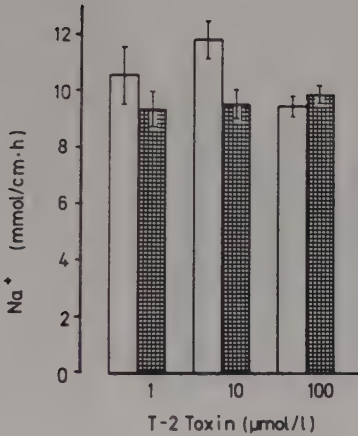


Abb. 2

Einfluß von T-2 Toxin auf den Natriumtransfer von der Mucosa- zur Serosaseite

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

T-2 Toxin wurde zu Beginn dem Inkubationsmedium in einer Konzentration von 1 bis $100 \mu\text{mol/l}$ zugegeben (gerasterte Säulen). Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle.

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 6 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm \text{S.E.}$). (s. Tab. I im Anhang)

Ordinate: transportierte Natriumionenmenge in mmol/cm Darm und Stunde (h)

Jejunum

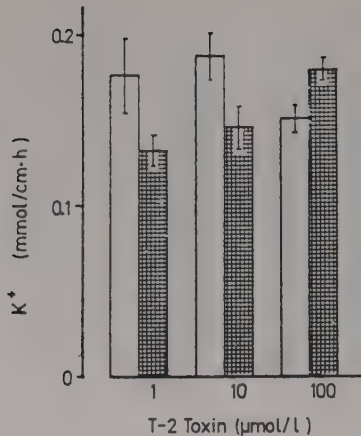


Abb. 3

Einfluß von T-2 Toxin auf den Kaliumtransfer von der Mucosa- zur Serosaseite

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten , Temperatur: 37°C

T-2 Toxin wurde zu Beginn dem Inkubationsmedium in einer Konzentration von 1 bis 100 µmol/l zugegeben (gerasterte Säulen). Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle.

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 6 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$). (s. Tab. I im Anhang)

Ordinate: transportierte Kaliumionenmenge in mmol/cm Darm und Stunde (h)

Jejunum

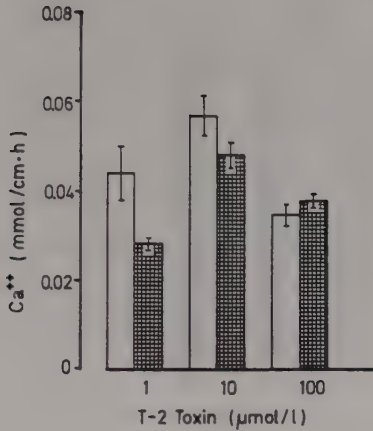


Abb. 4

Einfluß von T-2 Toxin auf den Calciumtransfer von der Mucosa- zur Serosaseite

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten , Temperatur: 37°C

T-2 Toxin wurde zu Beginn dem Inkubationsmedium in einer Konzentration von 1 bis 100 µmol/l zugegeben (gerasterte Säulen). Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle.

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 6 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{X} \pm S.E.$). (s. Tab. I im Anhang)

Ordinate: transportierte Calciumionenmenge in mmol/cm Darm und Stunde (h)

Jejunum

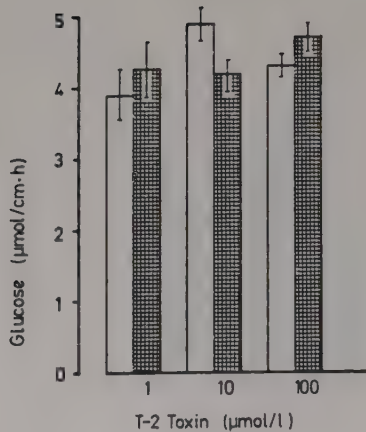


Abb. 5

Einfluß von T-2 Toxin auf den Glucosetransfer von der Mucosa- zur Serosaseite

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten , Temperatur: 37°C

T-2 Toxin wurde zu Beginn dem Inkubationsmedium in einer Konzentration von 1 bis 100 $\mu\text{mol}/\text{l}$ zugegeben (gerasterte Säulen). Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle.

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 6 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm \text{S.E.}$). (s. Tab. I im Anhang)

Ordinate: transportierte Glucosemenge in $\mu\text{mol}/\text{cm}$ Darm und Stunde (h)

3.2 Beeinflussung von Transportprozessen am isolierten Dünndarm nach Vorbehandlung der Ratte mit T-2 Toxin

Da sich innerhalb der für die Manifestation von toxischen Erscheinungen zu kurzen Perfusionsdauer von zwei Stunden im geprüften Konzentrationsbereich von 1 bis 100 $\mu\text{mol/l}$ bei direkter Zugabe von T-2 Toxin zum Inkubationsmedium kein Einfluß auf die transmurale Bewegung von Wasser, den Elektrolyten Natrium, Kalium und Calcium sowie Glucose erzielen ließ, wurde den Tieren in einer zweiten Versuchsreihe zwölf Stunden vor Versuchsbeginn T-2 Toxin intravenös oder peroral verabreicht.

Bei diesen Untersuchungen betrug die intravenös über eine der Schwanzvenen der Ratte applizierte Dosis 0,25 , 0,5 , 0,75 und 1,5 mg/kg Körpergewicht (b.w.), wobei das applizierte Volumen in einem Bereich zwischen 0,1 und 0,3 ml pro 100 g Körpergewicht der Ratte lag. Die oral verabreichte T-2 Toxindosis betrug 0,5 , 1,0, 1,5 und 3,0 mg/kg Körpergewicht.

In diesem Zusammenhang sollen vorab die k l i n i s c h e n Befunde, die die Ratten innerhalb der ersten zwölf Stunden nach Vorbehandlung mit T-2 Toxin boten, erwähnt werden.

So zeigten die Tiere ein räudiges, aufgestelltes Fell, ein Phänomen, das Singh et al. (1985) als "hair erection" bezeichnet haben.

Auch die beobachteten Krampffzustände dürfen sicher als Ausdruck der Neurotoxizität des verabreichten T-2 Toxins gewertet werden. Darüber hinaus imponierten dosisabhängig blutige Exkremente sowie ein Abfall der Körperkerntemperatur (Abb. 20), eine Beobachtung, die auch von anderen Autoren für die Ratte (Kosuri et al., 1971), für die Katze (Sato et al., 1975) und für die Maus (Matsuoaka et al., 1979) beschrieben wurde.

Nach Eröffnung des Abdomens in Ethernarkose war eine hämorrhagische Infarzierung des gesamten Intraperitonealraumes auffällig, vorzugsweise im Bereich der Mesenterialwurzel und der Lymphknoten. Ebenso häufig fand sich eine Dilatation des mit flüssig-gallichem Inhalt gefüllten Intestinaltraktes, der bei der Präparation einen deutlichen Elastizitätsverlust aufwies.

Beeindruckend war vor allem ein teilweise massives Ödem des ebenfalls blutig infiltrierten Lungengewebes.

Die Resultate dieser Untersuchungen, in denen den Tieren zwölf Stunden nach Vorbehandlung die Darmsegmente wie in der ersten Versuchsreihe entnommen wurden, sind in den Tabellen II bis VI zusammengefaßt und in den Abbildungen 6 bis 16 graphisch dargestellt. Nur enthielt jetzt die Perfusionslösung selbst kein T-2 Toxin mehr.

3.2.1 Effekte am Jejunum

Zur Klärung der Frage, ob eine akute Intoxikation der Ratte mit T-2 Toxin physiologische Transportprozesse des Dünndarmes beeinflusst, wurden die Wasser- und Elektrolytbewegung sowie die Glucoseresorption gemessen.

Perfundiert man Jejunumsegmente mit einer durchschnittlichen Länge von 10 cm mittels Carbogen-gesättigter Tyrodelösung über zwei Stunden, werden unter Kontrollbedingungen nahezu 2 ml Flüssigkeit resorbiert.

In Abbildung 6 ist der Einfluß einer Vorbehandlung mit T-2 Toxin auf die transmurale Wasserbewegung im oberen Intestinaltrakt der Ratte wiedergegeben. Betrachtet man unter steigender intravenöser Toxinverabfolgung den Flüssigkeitstransport von der Mucosa- zur Serosaseite, läßt sich selbst bei einer Einzelgabe von 0,75 mg/kg Körpergewicht nach zwölf Stunden kein Effekt ex vivo erkennen. Hingegen findet sich im vergleichbaren Dosisbereich nach peroraler Applikation von T-2 Toxin bereits eine dosisabhängige Beeinträchtigung des Wasserdurchtrittes, was im rechten Teil der Abbildung noch einmal in Form einer Dosis-Wirkungskurve halblogarithmisch dargestellt ist. Die Inhibition der Wasserresorption steigt dabei im geprüften Konzentrationsbereich von 0,5 bis 1,5 mg/kg Körpergewicht linear von etwa 12 Prozent auf nahezu 55 Prozent im Vergleich zur Kontrolle an.

JEJUNUM

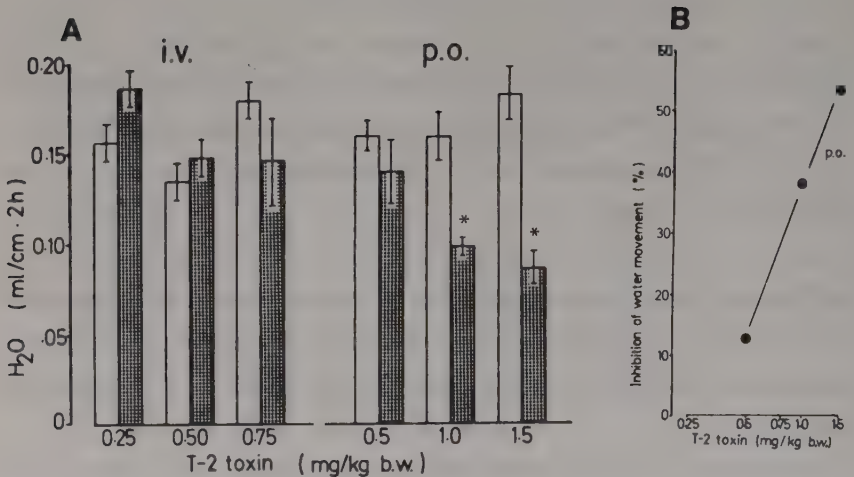


Abb. 6

Einfluß einer einmaligen Applikation von T-2 Toxin auf den Wassertransfer von der Mucosa- zur Serosaseite im oberen Jejunum der Ratte

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 4 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{X} \pm \text{S.E.}$). (s. Tab. II und III im Anhang) * $p < 0,05$. Die offenen Säulen repräsentieren die jeweilige Kontrolle.

In Teil A der Abbildung ist der Durchtritt von Wasser durch die Darmwand pro cm innerhalb von 2 Stunden nach intravenöser (i.v.) bzw. peroraler (p.o.) Vorbehandlung mit T-2 Toxin dargestellt (gerasterte Säulen). Die Dosis betrug 0,25 - 0,75 bzw. 0,5 - 1,5 mg/kg Körpergewicht (Abszisse).

In Teil B der Abbildung sind die entsprechenden in Teil A aufgeführten Daten in Form einer Dosis-Wirkungskurve wiedergegeben.

Ordinate: Hemmung der transmuralen Wasserbewegung von der Mucosa- zur Serosaseite in Prozent der Kontrolle

Mit dieser Hemmung der Wasserresorption aus dem Darmlumen geht gleichzeitig eine Resorptionshemmung für Natriumionen einher, was der Befund in Abbildung 7 verdeutlicht. Auf der Ordinate ist im linken Teil der Abbildung die Transportgeschwindigkeit von Natriumionen pro cm Darm und zwei Stunden aufgetragen. Die Abszisse gibt die einmalig applizierte T-2 Toxindosis - intravenös oder peroral - wieder. Auch hier beobachtet man in dem zunächst geprüften, niedrigeren Dosisbereich lediglich nach oraler Darreichung eine signifikante Einschränkung des Transportes für Natriumionen gegenüber den Kontrollen. Mit steigender Toxindosis nimmt die transferierte Natriumionenmenge ab, wobei die Resorptionshemmung eine der inhibierten Wasserbewegung vergleichbare Größenordnung annimmt.

Abbildung 8 zeigt den Einfluß von T-2 Toxin auf die Kaliumionenkonzentration im Resorbat, dargestellt in mmol/l. Wie der Abbildung zu entnehmen ist, läßt sich jetzt nur nach intravenöser Vorbehandlung der Tiere eine statistisch signifikante Erhöhung der Kaliumionenkonzentration auf der Serosaseite im Vergleich zu den Kontrollen sichern, die bei der höchsten geprüften T-2 Toxinkonzentration von 0,75 mg/kg Körpergewicht etwa 40 Prozent ausmacht.

Abbildung 9 demonstriert den Glucosetransfer durch das Mucosaepithel von der luminalen zur basolateralen Seite in Abhängigkeit von der T-2 Toxindosis. Betrachtet man die transportierte Menge in μmol pro cm Darm, so kommt es sowohl nach intravenöser als

JEJUNUM

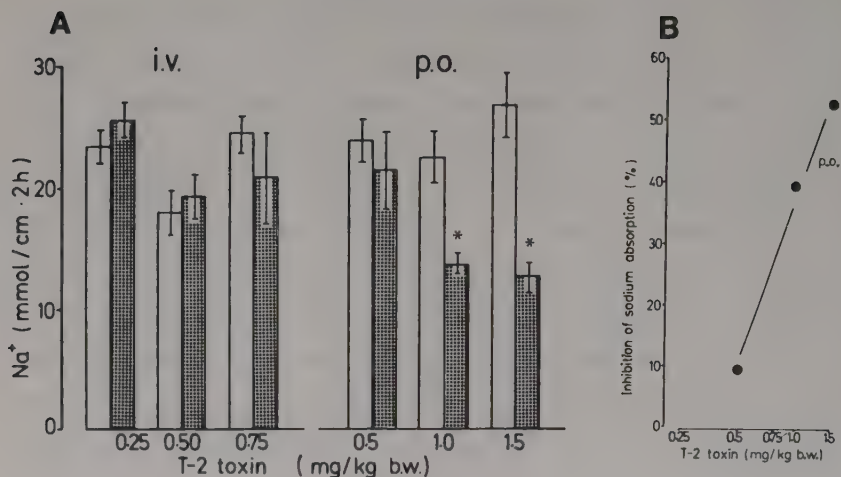


Abb. 7

Einfluß einer einmaligen Applikation von T-2 Toxin auf den Natriumtransfer von der Mucosa- zur Serosaseite im oberen Jejunum der Ratte

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 4 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$). (s. Tab. II und III im Anhang) * $p < 0,05$. Die offenen Säulen repräsentieren die jeweilige Kontrolle.

In Teil A der Abbildung ist der Durchtritt von Natriumionen durch die Darmwand pro cm innerhalb von 2 Stunden nach intravenöser (i.v.) bzw. peroraler (p.o.) Vorbehandlung mit T-2 Toxin dargestellt (gerasterte Säulen). Die Dosis betrug 0,25 - 0,75 bzw. 0,5 - 1,5 mg/kg Körpergewicht (Abszisse).

In Teil B der Abbildung sind die entsprechenden in Teil A aufgeführten Daten in Form einer Dosis-Wirkungskurve wiedergegeben.

Ordinate: Hemmung der Natriumresorption in Prozent der Kontrolle

JEJUNUM

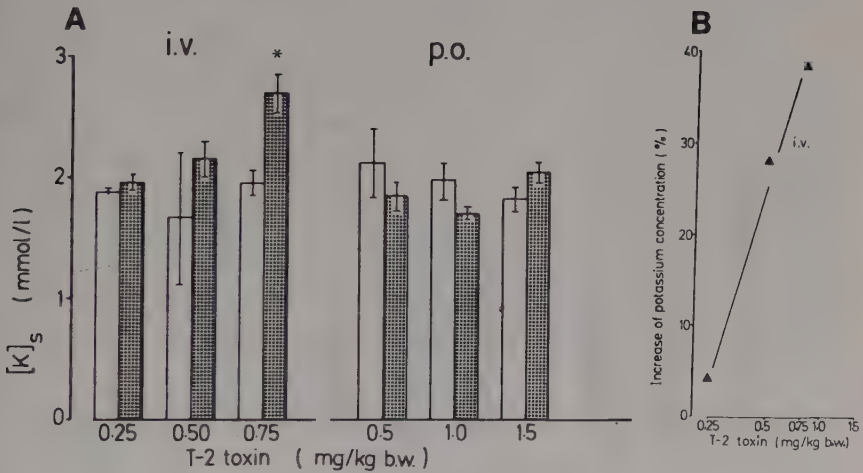


Abb. 8

Einfluß einer einmaligen Applikation von T-2 Toxin auf die serosale Kaliumkonzentration im oberen Jejunum der Ratte

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 4 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{X} \pm S.E.$). (s. Tab. II und III im Anhang) * $p < 0,05$. Die offenen Säulen repräsentieren die jeweilige Kontrolle.

In Teil A der Abbildung ist die innerhalb von 2 Stunden im Resorbat vorhandene Kaliumkonzentration in mmol/l nach intravenöser (i.v.) bzw. peroraler (p.o.) Vorbehandlung mit T-2 Toxin dargestellt (gerasterte Säulen). Die Dosis betrug 0,25 - 0,75 bzw. 0,5 - 1,5 mg/kg Körpergewicht (Abszisse).

In Teil B der Abbildung sind die entsprechenden in Teil A aufgeführten Daten in Form einer Dosis-Wirkungskurve wiedergegeben.

Ordinate: Anstieg der Kaliumkonzentration in Prozent der Kontrolle

JEJUNUM

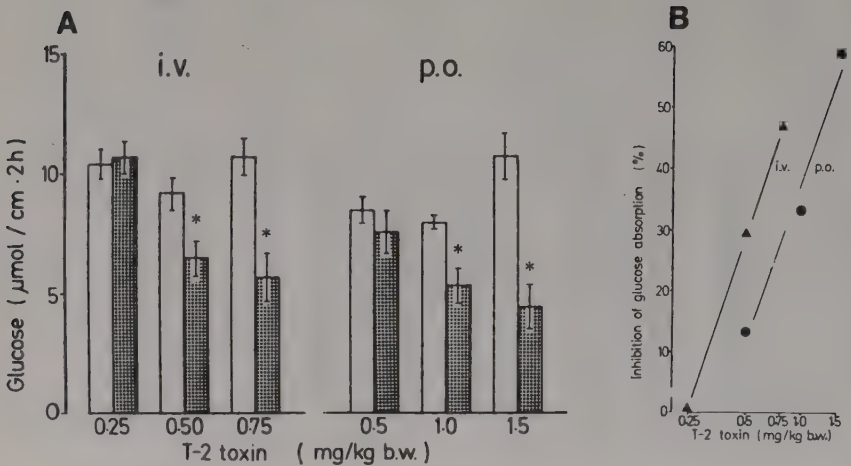


Abb. 9

Einfluß einer einmaligen Applikation von T-2 Toxin auf den Glucosetransfer von der Mucosa- zur Serosaseite im oberen Jejunum der Ratte

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 4 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{X} \pm \text{S.E.}$). (s. Tab. II und III im Anhang) * $p < 0,05$. Die offenen Säulen repräsentieren die jeweilige Kontrolle.

In Teil A der Abbildung ist der Durchtritt von Glucose durch die Darmwand pro cm innerhalb von 2 Stunden nach intravenöser (i.v.) bzw. peroraler (p.o.) Vorbehandlung mit T-2 Toxin dargestellt (gerasterte Säulen). Die Dosis betrug 0,25 - 0,75 bzw. 0,5 - 1,5 mg/kg Körpergewicht (Abszisse).

In Teil B der Abbildung sind die entsprechenden in Teil A aufgeführten Daten in Form einer Dosis-Wirkungskurve wiedergegeben.

Ordinate: Hemmung der Glucoseresorption in Prozent der Kontrolle

auch nach peroraler Vorbehandlung der Ratte im oberen Dosisbereich zu einer signifikanten Herabsetzung der Transportleistung für Glucose (Abb. 9 A). Der rechte Teil der Abbildung (9 B) stellt die Resultate halblogarithmisch in Form einer Dosis-Wirkungsbeziehung dar. Da beide Kurven eine annähernd gleiche Steilheit besitzen, ermöglicht ihre Lage zueinander einen Vergleich der T-2 Toxinwirkung in Abhängigkeit von der Darreichungsform: parenteral verabfolgt bewirkt die gleiche Dosis (0,5 mg/kg Körpergewicht) gegenüber der oralen Applikationsart eine mehr als doppelt so starke Hemmung des transepithelialen Glucosetransfers.

An diesem Punkt stellt sich nun die Frage, ob durch die Wahl höherer Dosen auch nach intravenöser Applikation eine Inhibition der resorptiven Aktivität von Wasser und Natriumionen erzielt werden kann.

Die Abbildungen 10 und 11 verdeutlichen noch einmal den Transfer für Flüssigkeit und Natriumionen in vitro, zwölf Stunden nach T-2 Toxingabe. Dabei ist die intravenöse Darreichung von 1,5 mg/kg Körpergewicht der peroralen Verabfolgung von 3,0 mg/kg Körpergewicht gegenübergestellt. Unter diesen hohen T-2 Toxindosen kommt es nunmehr unabhängig von der Applikationsform zu einer signifikanten und durchaus vergleichbaren Einschränkung der transmuralen Wasser- und Natriumionenbewegung.

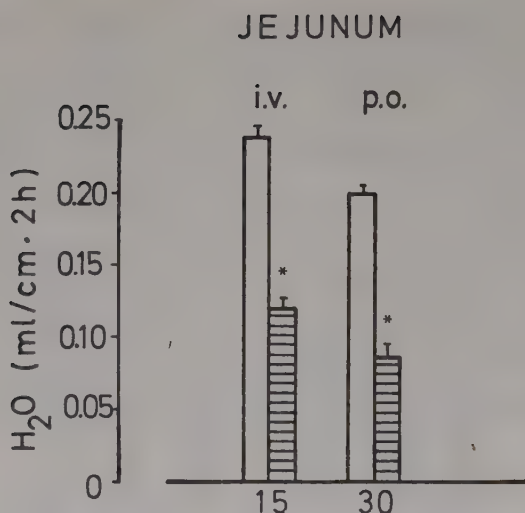


Abb. 10

Einfluß einer einmaligen hohen T-2 Toxingabe auf den Wassertransfer von der Mucosa- zur Serosaseite im oberen Jejunum der Ratte

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 5 bis 22 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$). (s. Tab. IV im Anhang) * $p < 0,001$. Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle.

Dargestellt ist der Durchtritt von Wasser durch die Darmwand pro cm innerhalb einer Versuchsdauer von 2 Stunden nach intravenöser (i.v.) bzw. peroraler (p.o.) Vorbehandlung mit T-2 Toxin (gestrichelte Säulen). Die Dosis betrug 1,5 bzw. 3,0 mg/kg Körpergewicht.

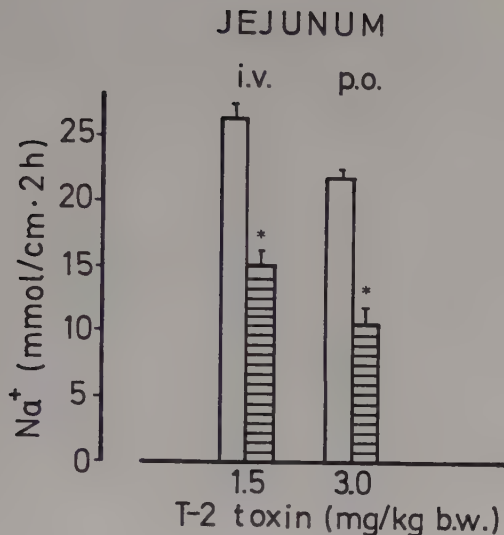


Abb. 11

Einfluß einer einmaligen hohen T-2 Toxingabe auf den Natriumtransfer von der Mucosa- zur Serosaseite im oberen Jejunum der Ratte

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 5 bis 22 Einzelversuchen ($\bar{X} \pm \text{S.E.}$). (s. Tab. IV im Anhang) * $p < 0,001$. Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle.

Dargestellt ist der Durchtritt von Natriumionen durch die Darmwand pro cm innerhalb einer Versuchsdauer von 2 Stunden nach intravenöser (i.v.) bzw. peroraler (p.o.) Vorbehandlung mit T-2 Toxin (gestrichelte Säulen). Die Dosis betrug 1,5 bzw. 3,0 mg/kg Körpergewicht.

Wie die Abbildung 12 zeigt, ist unter dieser hohen Dosierung jetzt auch bei beiden Darreichungsarten die Kaliumionenkonzentration auf der Serosaseite signifikant erhöht.

Aufgrund der vorliegenden Untersuchungen kann festgehalten werden: T-2 Toxin hemmt zwölf Stunden nach Vorbehandlung der Ratte - unabhängig von der Art der Applikation - am isolierten, nicht durchbluteten oberen Jejunum unter ex vivo-Bedingungen dosisabhängig die Wasser- und Natriumionenresorption als auch den trans-epithelialen Glucosetransfer. Darüber hinaus kommt es zu einer Kaliumionenanreicherung auf der Serosaseite.

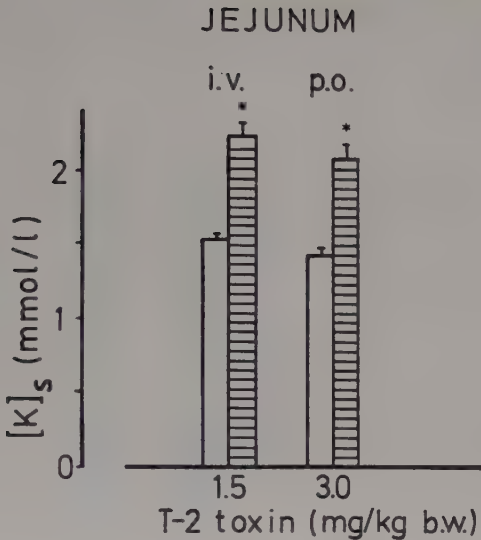


Abb. 12

Einfluß einer einmaligen hohen T-2 Toxingabe auf die serosale Kaliumkonzentration im oberen Jejunum der Ratte

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 5 bis 22 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$). (s. Tab. IV im Anhang) * $p < 0,001$. Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle.

Dargestellt ist die innerhalb von 2 Stunden im Resorbat vorhandene Kaliumionenkonzentration in mmol/l nach intravenöser (i.v.) bzw. peroraler (p.o.) Vorbehandlung mit T-2 Toxin (gerasterte Säulen). Die Dosis betrug 1,5 bzw. 3,0 mg/kg Körpergewicht.

3.2.2 Effekte am Ileum

Um im Vergleich zum oberen Jejunum eine Aussage über den Einfluß einer einmalig intravenös oder peroral verabreichten T-2 Toxindosis auf die Resorptionsvorgänge auch am terminalen Dünndarm machen zu können, wurden entsprechend Ileumsegmente mit einer mittleren Länge von 10 cm, gemessen von der Valvula ileocaecalis oralwärts, nach der Methode von Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985) perfundiert. Die Abbildungen 13 bis 16 zeigen die jeweiligen Befunde für diesen Darmabschnitt.

Unter Kontrollbedingungen liegt die Flüssigkeitsresorption bei einer durchschnittlichen Darmlänge von 10 cm bei etwa 1 ml. Die Abbildungen 13 und 14 verdeutlichen die Wasser- und Natriumbewegung zwölf Stunden nach einer einmaligen T-2 Toxingabe. Man beobachtet lediglich bei der niedrigsten, intravenösen Dosierung von 0,25 mg/kg Körpergewicht eine Resorptionssteigerung für Wasser und Natriumionen, während sich bei einer T-2 Toxindosis von 0,75 mg/kg Körpergewicht eher eine Transportminderung beider Parameter andeutet.

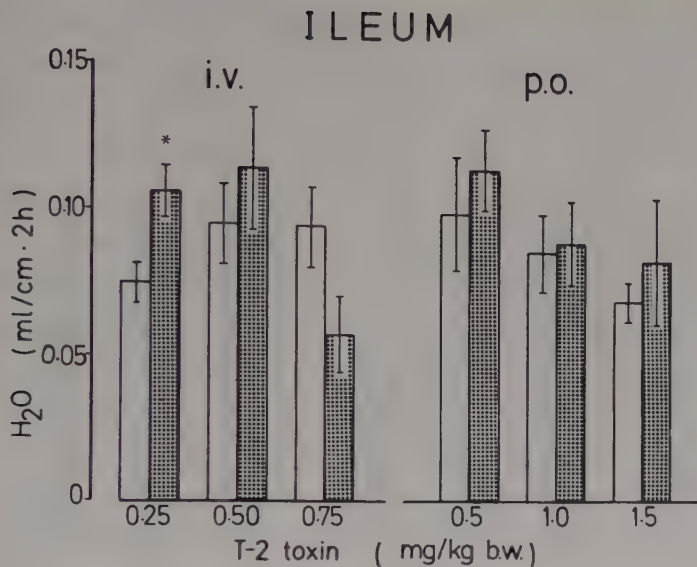


Abb. 13

Einfluß einer einmaligen Applikation von T-2 Toxin auf den Wassertransfer von der Mucosa- zur Serosaseite im Ileum der Ratte

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 3 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$). (s. Tab. V und VI im Anhang) * $p < 0,05$. Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle.

Dargestellt ist der Durchtritt von Wasser durch die Darmwand pro cm innerhalb einer Versuchsdauer von 2 Stunden nach intravenöser (i.v.) bzw. peroraler (p.o.) Vorbehandlung mit T-2 Toxin (gerasterte Säulen). Die Dosis betrug 0,25 - 0,75 bzw. 0,5 - 1,5 mg/kg Körpergewicht.

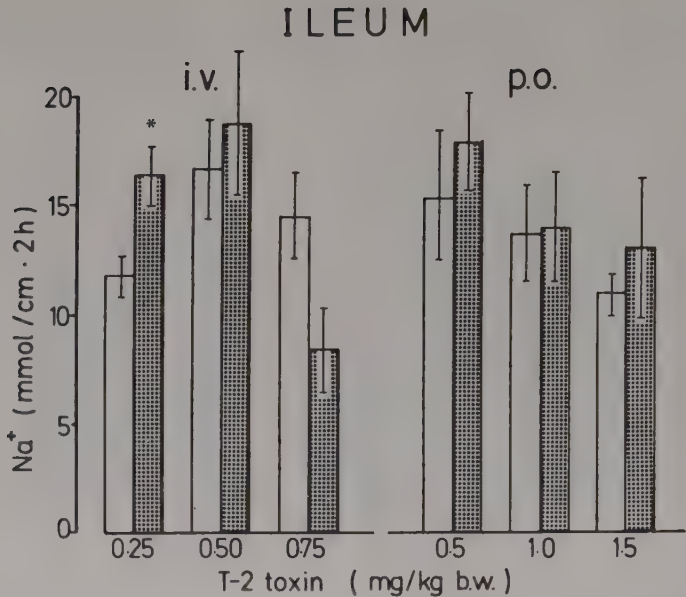


Abb. 14

Einfluß einer einmaligen Applikation von T-2 Toxin auf den Natriumtransfer von der Mucosa- zur Serosaseite im Ileum der Ratte

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 3 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{X} \pm \text{S.E.}$). (s. Tab. V und VI im Anhang) * $p < 0,05$. Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle.

Dargestellt ist der Durchtritt von Natriumionen durch die Darmwand pro cm innerhalb einer Versuchsdauer von 2 Stunden nach intravenöser (i.v.) bzw. peroraler (p.o.) Vorbehandlung mit T-2 Toxin (gerasterte Säulen). Die Dosis betrug 0,25 - 0,75 bzw. 0,5 - 1,5 mg/kg Körpergewicht.

In Abbildung 15 ist die serosale Kaliumionenkonzentration $[K_S]$ in Abhängigkeit von der Darreichung steigender T-2 Toxindosen aufgetragen. Nach oraler Vorbehandlung der Ratte ergibt sich hinsichtlich des Kaliumionengehaltes auf der Serosaseite nach zwei Stunden Perfusionsdauer eine dosisabhängige Ionenanreicherung, die bei einer Dosierung von 1,5 mg/kg Körpergewicht einen Konzentrationsanstieg von nahezu 70 Prozent im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollen bewirkt. Nach parenteraler Toxinapplikation kommt es bei niedriger Dosis hingegen zu einer Zunahme der Kaliumionenkonzentration auf der Serosaseite.

Im Gegensatz zum proximalen Jejunum, an dem sowohl nach intravenöser wie nach peroraler Gabe von T-2 Toxin eine Inhibition des Glucosetransfers zu verzeichnen war, beobachtet man am Ileum einen gegensinnigen Effekt.

Abbildung 16 zeigt den transepithelialen Glucosetransport von der Mucosa- zur Serosaseite auf, wonach sich nach intravenöser Vorbehandlung mit der niedrigsten Toxindosis (0,25 mg/kg Körpergewicht) eine signifikante Steigerung des Glucosetransfers ergibt. Dieser Befund läßt sich allerdings bei höheren Toxindosen nicht bestätigen. Bei peroraler Gabe finden sich hingegen keine Unterschiede zu den entsprechenden Kontrollperfusionen.

ILEUM

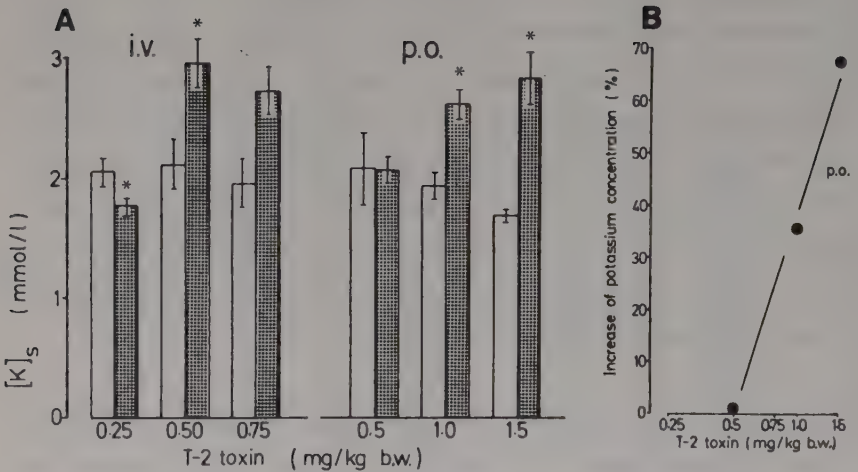


Abb. 15

Einfluß einer einmaligen Applikation von T-2 Toxin auf die serosale Kaliumkonzentration im Ileum der Ratte

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 3 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$). (s. Tab. V und VI im Anhang) * $p < 0,05$. Die offenen Säulen repräsentieren die jeweilige Kontrolle.

In Teil A der Abbildung ist die innerhalb von 2 Stunden im Resorbat vorhandene Kaliumionenkonzentration in mmol/l nach intravenöser (i.v.) bzw. peroraler (p.o.) Vorbehandlung mit T-2 Toxin dargestellt (gerasterte Säulen). Die Dosis betrug 0,25 - 0,75 bzw. 0,5 - 1,5 mg/kg Körpergewicht (Abszisse).

In Teil B der Abbildung sind die entsprechenden in Teil A für die perorale Vorbehandlung aufgeführten Daten in Form einer Dosis-Wirkungskurve wiedergegeben.

Ordinate: Anstieg der Kaliumionenkonzentration in Prozent der Kontrolle

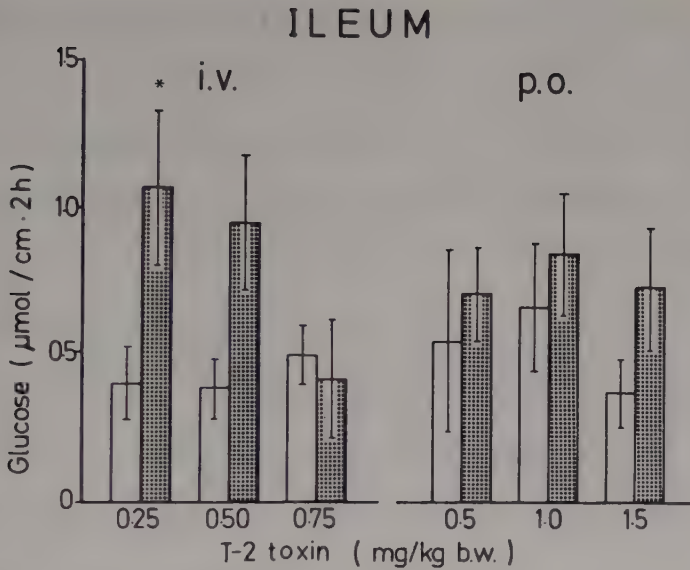


Abb. 16

Einfluß einer einmaligen Applikation von T-2 Toxin auf den Glucosetransfer von der Mucosa- zur Serosaseite im Ileum der Ratte

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 3 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$). (s. Tab. V und VI im Anhang) * $p < 0,05$. Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle.

Dargestellt ist der Durchtritt von Glucose durch die Darmwand pro cm innerhalb einer Versuchsdauer von 2 Stunden nach intravenöser (i.v.) bzw. peroraler (p.o.) Vorbehandlung mit T-2 Toxin (gestrichelte Säulen). Die Dosis betrug 0,25 - 0,75 bzw. 0,5 - 1,5 mg/kg Körpergewicht.

Am Ileum findet sich also nach peroraler Vorbehandlung kein Einfluß auf die Resorption von Wasser, Elektrolyten und Glucose, während sich nach parenteraler Gabe in der niedrigsten geprüften Dosierung eine Steigerung des Glucosetransfers abzeichnet. Die Kaliumionenkonzentration auf der Serosaseite steigt unabhängig von der Applikationsart am Ileum dosisabhängig an.

3.3 Intestinaler Metabolismus von T-2 Toxin

Um Aufschluß über das Schicksal von T-2 Toxin während des Durchtrittes durch die Darmwand zu erlangen, wurde der Metabolismus von T-2 Toxin orientierend unter in vitro-Bedingungen untersucht.

Hierzu wurde ^3H -T-2 Toxin in einer niedrigen (2,5 $\mu\text{mol/l}$) und einer hohen Konzentration (100 $\mu\text{mol/l}$) der Perfusionslösung zugesetzt und die Metabolisierung von T-2 Toxin während der Translokation durch die Wand isolierter Jejunum- und Ileumsegmente innerhalb von 120 Minuten verfolgt. Nach Versuchsende wurden die Darmstücke aus der Durchströmungsapparatur nach Richter und Strugala (1985) entnommen. Die Auftrennung der Perfusat- und Resorbatprobe einer jeden Versuchseinheit erfolgte mit Hilfe der HPLC-Technik (Hochdruckflüssigkeitschromatographie), die Bestimmung von T-2 Toxin und seiner möglichen Umwandlungsprodukte mittels Radiodetektion (vgl. Abb. 18).

Abbildung 17 weist auf einen Metabolismus von T-2 Toxin im Dünndarm der Ratte unter in vitro-Bedingungen hin. Aufgezeichnet ist einerseits die Verteilung der Gesamtradioaktivität im Perfusat und Resorbat, andererseits der Anteil der T-2 Toxinkonzentration an dieser Gesamtradioaktivität. Dabei wird deutlich, daß innerhalb einer Versuchsdauer von 120 Minuten in vitro eine Verstoff-

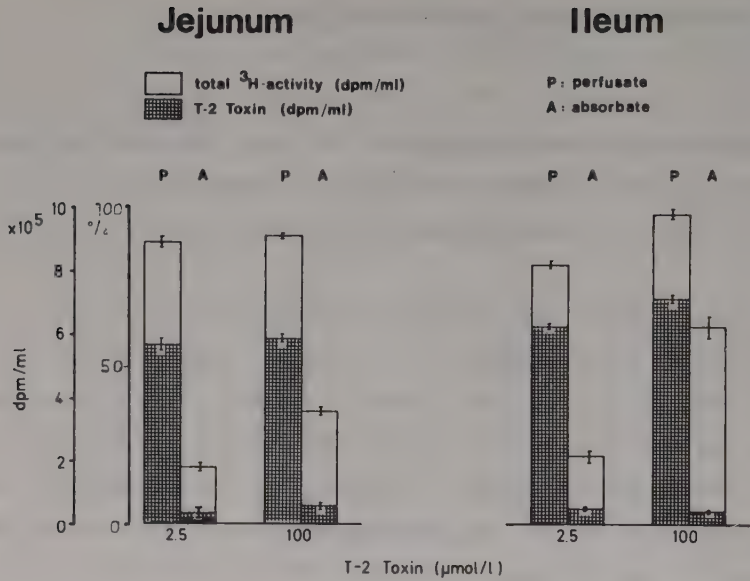


Abb. 17

Intestinaler Metabolismus von T-2 Toxin im Jejunum und Ileum der Ratte in vitro

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 5 bis 10 Einzelversuchen ($\bar{X} \pm \text{S.E.}$). (s. Tab. VII im Anhang)

Zu Versuchsbeginn betrug die ^3H -T-2 Toxinkonzentration im Perfusat 1 000 000 dpm/ml ($\hat{=}$ 2,5 $\mu\text{mol/l}$). Dargestellt ist in den offenen Säulen die Konzentration an Gesamtradioaktivität im Perfusat (P) und Resorbat (A), in den gerasterten Säulen der Anteil der T-2 Toxinkonzentration an der Gesamtradioaktivität, jeweils nach 2 Stunden.

Ordinaten: Konzentration an Radioaktivität in dpm/ml;
Prozent der eingesetzten Gesamtradioaktivität

Abszisse: T-2 Toxinkonzentration im Inkubationsmedium in $\mu\text{mol/l}$

wechselung eintritt; d.h. nicht umgesetztes T-2 Toxin gelangt in nur geringen Mengen auf die Serosaseite (Resorbat) des Darmes, wo es mit durchschnittlich 5 Prozent bezogen auf die angebotene Ausgangsaktivität erscheint. Auf der Mucosaseite, d.h. im Perfusat, beträgt der Anteil an nicht umgesetztem T-2 Toxin unabhängig von der eingesetzten Toxinkonzentration und dem geprüften Darmabschnitt etwa 60 Prozent der Gesamtaktivität.

Während bei der im Perfusat verbleibenden Radioaktivität bei beiden untersuchten Darmsegmenten keine Konzentrationsabhängigkeit erkennbar ist, zeigt sich ein konzentrationsabhängiger Übertritt von Gesamtradioaktivität auf die Serosaseite sowohl im Jejunum als auch im Ileum.

Bei niedriger T-2 Toxinkonzentration (2,5 $\mu\text{mol/l}$) finden sich nach Versuchsende etwa 20 Prozent der eingesetzten Radioaktivität im Resorbat wieder, hingegen kommt es bei hoher Toxinkonzentration (100 $\mu\text{mol/l}$) zu einer Akkumulation von Gesamtradioaktivität von 35 Prozent im Jejunum und etwa 60 Prozent im Ileum.

Die Metabolite, die von beiden Darmabschnitten in zwei Stunden gebildet werden, machen auf der Serosaseite 90 Prozent und mehr der übergetretenen Gesamtaktivität aus.

Wie aus Abbildung 18 deutlich wird, sind beide Darmabschnitte in der Lage, T-2 Toxin zu hydrophileren Metaboliten umzusetzen.

Abbildung 18 A zeigt das Radiochromatogramm aus einer Probe bei rezirkulierender Kontrollperfusion ohne eingehängtes Darmsegment. Nach einer Versuchsdauer von 120 Minuten können rund 90 Prozent der Gesamtradioaktivität der unveränderten Form des T-2 Toxins zugeordnet werden. Bei einer Eluentenzusammensetzung von 50 % Acetonitril und 50 % Wasser (v/v) und einer Flußrate von 1 ml/min beträgt die Retentionszeit von T-2 Toxin im Mittel 4,45 Minuten.

In den Abbildungen 18 B und 18 C ist die HPLC-Analyse des Perfusates und Resorbates exemplarisch für das obere Jejunum dargestellt. Wie die Chromatogramme verdeutlichen, lassen sich neben der Originalsubstanz (T-2 Toxin) mindestens drei weitere Metabolite nachweisen, die mit 1 , 2 und 3 gekennzeichnet sind. Ihre Peaks erscheinen mit Retentionszeiten von weniger als zwei Minuten, woraus geschlossen werden kann, daß diese Umwandlungsprodukte aufgrund ihrer geringen Affinität zum apolaren C18-Material hydrophiler als T-2 Toxin selbst sind.

Hervorzuheben ist, daß nach einer Versuchszeit von 120 Minuten auf der Serosaseite (Abb. 18 C) nur etwa 10 Prozent nicht umgesetzten T-2 Toxins zu finden sind. Als Hauptmetabolit kann ein Umwandlungsprodukt mit einer Retentionszeit von etwa zwei Minuten beschrieben werden, das in der Perfusatprobe (Abb. 18 B) mit einem Anteil von weniger als 30 Prozent vertreten ist.

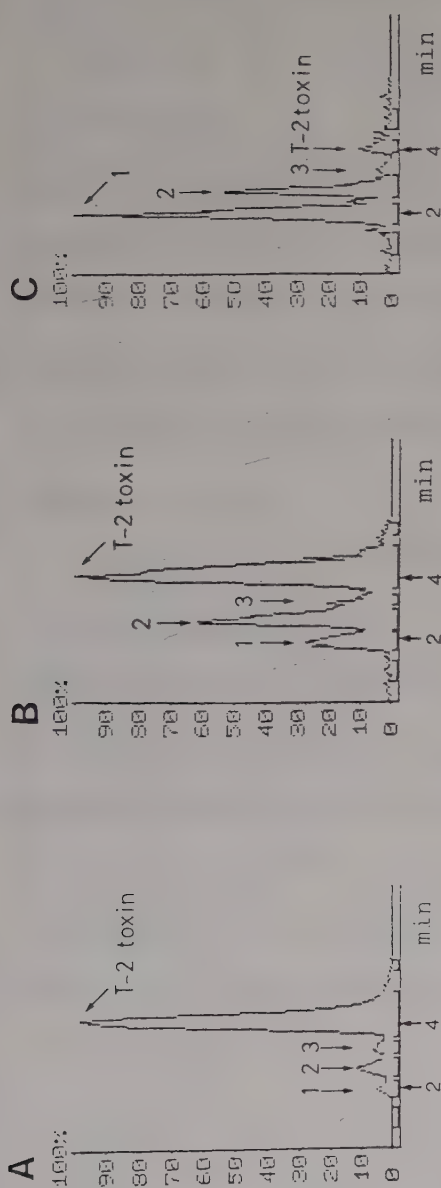


Abb. 18

HPLC-Chromatogramme aus einer Probe bei rezirkulierender Kontrollperfusion ohne Darmsegment (A) sowie von Perfusat- (B) und Resorbatproben (C).

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)
 Inkubationszeit: 120 Minuten, Temperatur: 37°C, Darmabschnitt: Jejunum
 T-2 Toxinkonzentration: 100 µmol/l $\pm$ 1 000 000 dpm/ml
 Chromatographiebedingungen: Acetonitril-Wasser-Gemisch (50/50, v/v), 12,5 cm lange RP-Cl8-Säule (5 µm, ϕ 4,6 mm) mit vorgeschalteter 2 cm langer RP-Cl8-Vorsäule (10 µm, ϕ 4,6 mm), Flußrate 1 ml/min
 Retentionszeit von T-2 Toxin: 4 min 45 sec; mit 1 bis 3 sind die hydrophileren Metaboliten gekennzeichnet.

Abszisse: Retentionszeit in Minuten; Ordinate: prozentuale Verteilung der Counts pro Sekunde

4. Diskussion

4.1 Methodisch-kritische Vorbemerkungen

Die Untersuchungen zum Einfluß von T-2 Toxin auf intestinale Resorptionsvorgänge wurden in vitro an isolierten, nicht durchbluteten Dünndarmsegmenten der Ratte nach der Methode von Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985) durchgeführt. Zum besseren Verständnis der Resultate und ihrer Bewertung ist zunächst eine methodisch-kritische Betrachtung der verwendeten Untersuchungsmethode selbst angezeigt.

Die experimentellen Untersuchungen wurden an den Dünndarmabschnitten Jejunum und Ileum durchgeführt.

Isoliert durchströmte Darmsegmente zeichnen sich dadurch aus, daß sie, begünstigt durch den Durchströmungsdruck auf der Mucosaseite von 25 cm Wassersäule, eine leicht meßbare Resorptionsleistung für Flüssigkeit zeigen. Am Jejunum wird in der Stunde etwa 1 ml Wasser pro 10 cm Darmlänge resorbiert, am Ileum gerade nahezu die Hälfte. Werden die Darmabschnitte mit Hemmstoffen des Zellstoffwechsels vergiftet, oder wird ihnen ein energielieferndes Substrat oder Sauerstoff entzogen, verringert sich die Transportleistung für Flüssigkeit. Deshalb werden die nach dieser Methode

isoliert durchströmten Darmsegmente immer dann benutzt, wenn mit dem Durchtritt eines Stoffes durch die Darmwand gleichzeitig seine Auswirkungen auf andere physiologische Transportleistungen miterfaßt werden sollen. Außerdem eignen sich diese Darmpräparationen auch gut für Untersuchungen der metabolischen Umwandlung eines Stoffes während der Translokation, weil die innerhalb der Versuchszeit von zwei Stunden gewonnenen Resorbatmengen die Analytik erleichtern (Strugala, 1980).

Zur Überprüfung der physiologischen Leistungsfähigkeit isolierter, durchströmter Darmabschnitte nach der Methode von Fisher und Parsons (1949) können als verlässliche Beurteilungskriterien herangezogen werden:

- a) der Bergauftransport der Glucose sowie
 - b) die Netto-Wasserverschiebung als eine Folge des aktiven Natriumtransportes
- von der Mucosa- zur Serosaseite.

Die Darmsegmente, die in die Untersuchungen eingegangen sind, entsprachen den hier aufgestellten Vitalitätskriterien.

4.2 Zur Wirkung von T-2 Toxin auf die Wasser-, Elektrolyt- und Glucoseresorption

4.2.1 Zur direkten Wirkung von T-2 Toxin

Bietet man T-2 Toxin in einem Konzentrationsbereich von 1 bis 100 $\mu\text{mol/l}$ direkt auf der Mucosaseite des Darmes an, so haben die Untersuchungen ergeben, daß der Wasser- und Elektrolyttransport sowie der Bergauftransport der Glucose sowohl am Jejunum als auch am Ileum nicht beeinträchtigt ist.

Vergleicht man diese Befunde mit den ex vivo-Versuchen, in denen die Ratten zwölf Stunden mit T-2 Toxin vorbehandelt wurden, so zeigt sich, daß T-2 Toxin in diesem Fall sowohl hemmend als fördernd in intestinale Transportprozesse eingreifen kann.

Unter der Annahme eines Magen-Darminhaltes der Ratte von 5 ml und einer oralen T-2 Toxinapplikation von 1,5 mg/kg Körpergewicht läßt sich eine luminale Konzentration in der Größenordnung von 150 $\mu\text{mol/l}$ abschätzen.

Bei einer Gegenüberstellung der Konzentrationen wird deutlich, daß nach direkter Zugabe von T-2 Toxin zum Perfusionsmedium eine gleichbleibend hohe Konzentration unter konstantem Druck zirkuliert.

liert. Bei Darmentnahme zwölf Stunden nach der eigentlichen T-2 Toxingabe dürfte hingegen die aktuelle Konzentration am Darm ungleich niedriger sein, zumal das Inkubationsmedium selbst kein T-2 Toxin mehr enthielt.

Daß sich nach einer zweistündigen Perfusion mit T-2 Toxin am Darm keine Effekte erzielen ließen, dürfte somit in der kurzen Expositionsdauer begründet sein.

Andererseits ist nicht auszuschließen, daß auch bereits hier metabolische Veränderungen im Sinne einer Entgiftung eine Rolle spielen.

4.2.2 Zur Wirkung von T-2 Toxin nach einmaliger Vorbehandlung der Ratte

Zwölf Stunden nach intravenöser oder peroraler Vorbehandlung der Ratte mit T-2 Toxin ergeben sich demgegenüber deutliche Veränderungen in der Funktion des Dünndarmes, wobei die Effekte am Jejunum und Ileum differieren.

Im proximalen Jejunum ist der transepitheliale Glucosetransfer sowohl nach intravenöser wie nach peroraler Verabreichung signifikant bis zu 60 Prozent der Kontrolle eingeschränkt. Dagegen ist

die Resorption von Wasser und Natrium sowohl nach parenteraler als auch nach oraler Toxingabe beeinträchtigt. Die Kaliumionenkonzentration steigt in der Serosaflüssigkeit im Jejunum und Ileum sowohl nach intravenöser wie peroraler Verabfolgung dosisabhängig an.

Ferner ist am Ileum bei der niedrigsten, parenteral geprüften T-2 Toxindosis (0,25 mg/kg Körpergewicht) eine deutliche Steigerung der Wasser- und Natriumionenbewegung sowie des Glucosetransfers zu verzeichnen, während aus peroraler Vorbehandlung mit T-2 Toxin kein Effekt auf die Resorption von Wasser, Natriumionen und Glucose resultiert.

In der Literatur liegen bislang nur drei Untersuchungen zur Wirkung von T-2 Toxin auf die Funktion des Dünndarmes vor.

So fanden Matsuoka und Kubota (1981) nach intraperitonealer Injektion von Fusarenon-X (4-Acetylnivalenol) in einer Dosierung von 1,0 mg/kg Körpergewicht am evertierten Jejunum der Ratte neben einer ausgeprägten Wassersekretion sowohl einen Austritt von Plasmabestandteilen (Hämoglobin) ins Darmlumen als auch eine Erniedrigung des Serumnatriumspiegels. Ihre Beobachtungen stehen in Einklang mit der in der vorliegenden Arbeit beobachteten Hemmung der Natriumionen- und Wasserresorption. Sie könnte die nach oraler Intoxikation in vivo auftretenden Wasser- und Elektrolytver-

verluste, die sich in Form einer massiven Diarrhoe äußern, erklären. Bei Eröffnung des Intrapерitonealraumes zeigte sich dosisabhängig ein stark dilatierter Dünndarm. Dieser Befund kann einer vermehrten Wasseransammlung im Darmlumen zugeschrieben werden, die sowohl Ausdruck einer gestörten Resorption als auch einer vermehrten Sekretion oder aber einer mucosalen Permeabilitätserhöhung sein kann.

Welche Bedeutung darüber hinaus einer durch Trichothecen-Mykotoxine hervorgerufenen Motilitätsstörung beizumessen ist, wie sie Matsuoka et al. (1979) nach Fusarenon-X-Gabe in Abhängigkeit von der Dosis beschrieben haben, ist derzeit noch nicht entschieden. Sollte es jedoch nach intragastraler T-2 Toxinapplikation zu einer vollständigen Aufhebung intestinaler Peristaltik kommen, muß einerseits mit einer verlängerten Verweildauer des Toxins im Intestinum nach Ingestion gerechnet werden. Andererseits könnte diese Tatsache als eine mögliche plausible Erklärung für den stark dilatierten, flüssigkeitsgefüllten Dünndarm nach T-2 Toxingabe herangezogen werden.

Auch nach intravenöser Gabe von T-2 Toxin sind in vivo Durchfälle zu verzeichnen. Jedoch lassen sich hier im Vergleich zur peroralen Verabfolgung erst nach höherer parenteraler Applikation von T-2 Toxin auch in vitro Auswirkungen auf die Resorptionsleistungen der Darmsegmente erzielen.

Bemerkenswert erscheinen in diesem Zusammenhang Befunde von Forth, 1987 (persönliche Mitteilung), der im Rahmen einer Verteilungsstudie nach intravenöser T-2 Toxininjektion nach 24 Stunden noch sehr hohe Toxinkonzentrationen im Dünndarm der Ratte nachweisen konnte.

Daß auch morphologische Veränderungen am Intestinaltrakt für die eingeschränkten Transportleistungen am Dünndarm der untersuchten Ratten verantwortlich sein können, diskutieren Tremel und Fichtl (1985). Sie beobachteten bei intravenöser T-2 Toxinapplikation histologisch eine erhebliche Schädigung der Schleimhaut bis zum vollständigen Epithelverlust.

Diese Zellschädigung wiederum läßt sich gut mit der in der vorliegenden Arbeit gezeigten Erhöhung der Kaliumionenkonzentration auf der Serosaseite in Einklang bringen.

Andererseits könnte die Kaliumionen-anreicherung auf der Serosaseite ebenso durch eine Permeabilitätserhöhung im Bereich der Darmwand erklärt werden. So beobachteten Matsuoka und Kubota (1981, 1982) 23 Stunden nach intraperitonealer Injektion von Fusarenon-X an der Ratte einen vermehrten Durchtritt von Evans-Blau-Lösung und führten dies auf eine erhöhte Durchlässigkeit der Blutgefäße sowie des intestinalen Epithels zurück. In diesen Zusammenhang stellen die Autoren auch eine von ihnen beschriebene Steigerung der D-Xyloseresorption in vitro, die sie 24 Stunden nach intraperitonealer Gabe von Fusarenon-X am evertierten Rattendarm feststellten.

Suneja et al. (1984) beobachteten in Übereinstimmung mit den Befunden der vorliegenden Arbeit an evertierten Darmsegmenten 24 Stunden nach oraler T-2 Toxinapplikation (1,5 mg/kg Körpergewicht) eine Hemmung des Glucosetransfers bei der Ratte, darüber hinaus eine Funktionseinschränkung der Bürstensaumenzyme Sucrase, Lactase und Na^+/K^+ -ATPase.

Sowohl die hier diskutierten eigenen Befunde als auch die in der Literatur beschriebenen Ergebnisse befassen sich ausschließlich mit der Wirkung von T-2 Toxin auf den proximalen Dünndarm. Für den distalen Dünndarmabschnitt sind jedoch bislang noch keine Befunde in der Literatur beschrieben worden.

Am Ileum findet sich unter dem Einfluß von T-2 Toxin weder eine Einschränkung der Wasser- und Elektrolytbewegung noch des Glucosetransportes. Vielmehr zeichnet sich am distalen Dünndarmabschnitt eher eine leichte Steigerung der Resorption von Wasser, Natrium und Glucose ab, deren Ursache bisher noch unklar ist. Möglicherweise sind diese Effekte im Sinne einer Kompensation der am Jejunum beobachteten Hemmung der Resorption von Elektrolyten, Wasser und Substraten zu verstehen.

4.3 Zur metabolischen Umwandlung von T-2 Toxin

Um die Resorbierbarkeit und damit die nach Ingestion zu erwartende, eigentliche Toxinaufnahme abschätzen zu können, muß bekannt sein, ob und in welchem Umfang T-2 Toxin in den Epithelzellen der Mucosa des Dünndarmes einer metabolischen Veränderung unterliegt. Um wiederum das Ausmaß einer Metabolisierung von T-2 Toxin während des Durchtrittes durch die Darmwand abschätzen zu können, wurden hochdruckflüssigkeitschromatographische Untersuchungen aus Perfusat- und Resorbatproben durchgeführt.

Tatsächlich zeigt sich *in vitro*, daß der Dünndarm bis zu 80 Prozent und mehr des T-2 Toxins zu wesentlich hydrophileren Stoffwechselprodukten metabolisiert (Abb. 18). Es ist daher anzunehmen, daß T-2 Toxin auch bei oraler Aufnahme rasch abgebaut wird. Dies läßt *in vivo* einen präsystemischen "first pass" Effekt erwarten. Angesichts der raschen Verstoffwechselung stellt sich die Frage, welche dieser Substanzen für die bei einer T-2 Toxinvergiftung auftretende Symptomatik verantwortlich gemacht werden muß.

In weitergehenden Untersuchungen zum Metabolismus und zur Toxokinetik von T-2 Toxin konnte gezeigt werden, daß T-2 Toxin nach oraler Gabe bei verschiedenen Spezies (Nagern, Kühen) rasch verstoffwechselt wird, was ebenfalls für einen hohen "first pass" Effekt spricht (Matsumoto et al. 1978; Yoshizawa et al. 1980; Visconti und Mirocha, 1985). Als Hauptmetabolite wurden dabei die

Deacylierungsprodukte HT-2 Toxin, 4-Deacetylneosolaniol und T-2 Tetraol sowie die hydroxylierten Verbindungen 3'-Hydroxy-T-2 Toxin bzw. 3'-Hydroxy-HT-2 Toxin im Plasma und in den Exkrementen der Versuchstiere identifiziert (Conrady, 1985; Conrady et al., 1986;).

In Untersuchungen von Chi et al. (1978) wurde an Küken eine Toxizitätsabnahme von T-2 Toxin zu HT-2 Toxin um den Faktor 1,5 festgestellt, so daß der in den vorliegenden Befunden am Darm in vitro zu beobachtende Metabolismus im Sinne einer Entgiftungsreaktion gedeutet werden kann.

Insgesamt läßt die Entstehung polarer Umwandlungsprodukte, denen auch 4-Deacetylneosolaniol zuzuordnen ist, eine bessere renale Elimination erwarten. Allerdings ist über die mögliche toxische Eigenwirkung der polaren Metabolite heute noch nichts bekannt.

5. Material und Methoden

5.1 Material

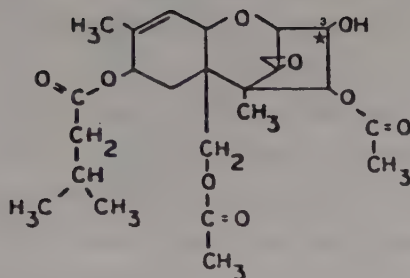
5.1.1 Versuchstiere

Weiblichen Sprague Dawley Ratten der Süddeutschen Versuchstierzuchtfarm, Tuttlingen, mit einem Körpergewicht zwischen 190 und 260 g wurde 21 Stunden vor Versuchsbeginn das Futter entzogen (Alma, Ratten- und Mäusehaltungsdiät H 1003, Friedrich Botzenhardt KG, Kempten). Während dieser Zeit hatten die Tiere freien Zugang zum Trinkwasser.

5.1.2 Substanzen

T-2 Toxin, 4 β -15-diacetoxy-8 - α -(3methylbutyryloxy)-12,13-epoxytrichothec-9-en-3 α -ol, wurde von der Firma Makor Chemicals ltd., Jerusalem, in Pulverform geliefert und vor Versuchsbeginn in Ethanol (1/9,v/v) gelöst. Die Summenformel lautet C₂₄H₃₄O₉, das Molekulargewicht beträgt 466,22 Dalton, die chromatographische Reinheit wurde mit 99% angegeben.

Tritiummarkiertes T-2 Toxin, α -(3-³H)T-2 Toxin, stammte von der Firma Amersham Buchler, Braunschweig. Die radioaktive Markierung war am *C₃-Atom des nachfolgend in seiner Strukturformel wiedergegebenen Moleküls vorgenommen. Die spezifische Aktivität betrug 0,43 Ci/g und lag als reines Alphaepimer vor.



Strukturformel von T-2 Toxin

Polyethylenglykol, (1,2-¹⁴C), wurde von der Firma NEN, New England Nuclear, Dreieich, BRD, bezogen. Das Molekulargewicht betrug 4,000 Dalton, die spezifische Aktivität 0,82 mCi/g.

5.2 Methoden

Alle Versuche wurden in vitro an isoliert perfundierten, nicht durchbluteten Darmsegmenten der Ratte durchgeführt.

5.2.1 Präparation der Darmsegmente

Die Präparation der Darmsegmente erfolgte in Ethernarkose. Durch einen Medianschnitt wurde das Abdomen der Ratte eröffnet. Beginnend an der Flexura duodenojejunalis wurde den Versuchstieren

nach aboral der proximale Jejunumabschnitt und von der Valvula ileocaecalis nach oral das terminale Dünndarmsegment, im folgenden als Ileum bezeichnet (Hebel und Stromberg, 1986), mit einer durchschnittlichen Länge von zehn Zentimetern entnommen. An beiden Enden der Darmsegmente wurden Glaskanülen mit Schliffansätzen eingebunden, danach die fixierten Dünndarmabschnitte mit 20 ml isotoner Kochsalzlösung von oral nach aboral entsprechend der physiologischen Passagerichtung des Speisebreies durchspült. Erst jetzt wurden die Darmsegmente von der mesenterialen Blutversorgung abgetrennt und in die Durchströmungsanordnung nach Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985) eingehängt (Abb. 19).

5.2.2 Perfusion

Die Durchströmung der isolierten, nicht durchbluteten Darmabschnitte erfolgte in einer von Richter und Strugala (1985) entwickelten Ganzglasperfusionsapparatur (Abb. 19). Bei der ursprünglich von Fisher und Parsons (1949) beschriebenen und durch Rummel und Stupp (1960) modifizierten Perfusionseinheit wurden lipophile Substanzen, zu denen auch T-2 Toxin gehört, an das installierte Schlauchmaterial adsorbiert. In der weiterentwickelten

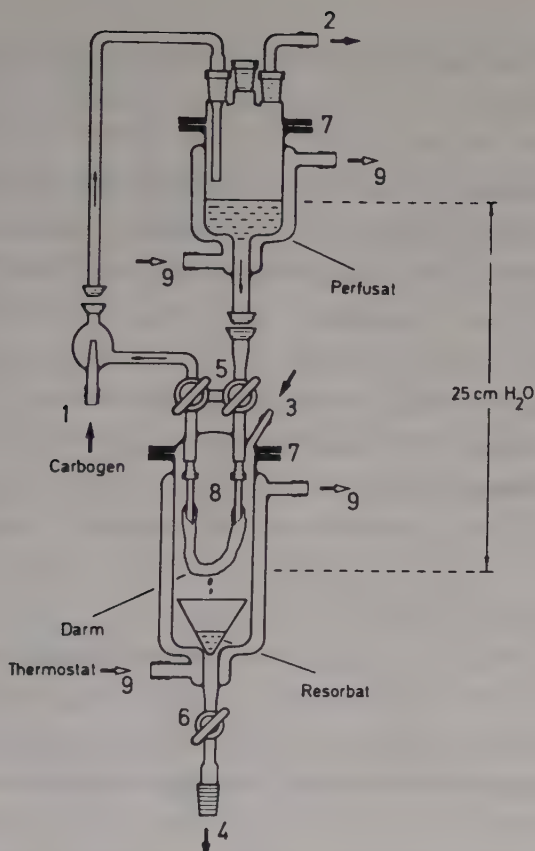


Abb. 19

Ganzglasperfusionsapparatur nach Richter und Strugala (1985)

Die mit Zahlen bezeichneten Apparaturteile entsprechen den folgenden Ein- und Ausgängen:

- 1 Zufuhr von Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) über Glasolive
- 2,3 Überleitung des Carbogens von der oberen Perfusionskammer (2) über einen Teflonschlauch (nicht eingezeichnet) in die untere Kammer
- 4 Ableitung des Carbogens aus der unteren Perfusionskammer
- 5 Dreiwegehähne aus Teflon - Perfusionsschunt -, die ein Perfundieren oder ausschließliches Rezirkulieren in der oberen Kammer (2) gestatten
- 6 Zweiwegehahn aus Teflon
- 7 Planschliffverbindung zum Verschluss der Kammern
- 8 Glasansatzröhrchen mit Schliff
- 9 nicht ausgefüllte Pfeile kennzeichnen den Weg des thermostatregulierten Wasserkreislaufes; Schlauchverbindungen

Ganzglasversion ersetzen Glasschliffverbindungen die anfänglich eingebauten Gummistopfen für den Verschluss der oberen und unteren Perfusionskammer.

Die Durchströmungsapparatur besteht im wesentlichen aus drei Einheiten: einer oberen Inkubationskammer, einem Verbindungselement mit zwei Dreiwegehähnen und einer Glasolive sowie einer unteren Inkubationskammer. Die Dreiwegehähne ermöglichen vor Versuchsbeginn ein ausschließliches Rezirkulieren der Perfusionslösung in der oberen Kammer, um eine Erwärmung auf 37°C und eine optimale Sauerstoffanreicherung zu erzielen. Die Perfusionslösung wurde dabei über eine Glasolive mit Carbogen (95% O₂, 5 % CO₂) begast und in Zirkulation gehalten. Die Perfusion der einzelnen Darmsegmente erfolgte mit 50 ml einer Tyrodelösung folgender Zusammensetzung: NaCl 8,0 g; KCl 0,2 g; CaCl₂ 2 H₂O 0,2 g; MgCl₂ 6 H₂O 0,1 g; NaHCO₃ 0,1 g; NaH₂PO₄ 0,056 g; als Energieträger diente Glucosemonohydrat 3,0 g ($\hat{=}$ 15 mmol/l) ad 1000 ml Aqua dest.. Der pH-Wert der Perfusionslösung betrug 7,2 bis 7,4 und blieb während der ganzen Versuchsdauer konstant (Strugala und Forth, 1984).

Die untere Kammer, die mit einem wassergesättigten Filterpapierstreifen feucht gehalten wurde, enthielt ein Spitzglas zum Auffangen der vom Darm abtropfenden Flüssigkeit (Resorbat).

Nach Einhängen der Darmsegmente und Verschluss der unteren Kammer wurde das Perfusionsmedium über die Dreiwegehähne durch den Darm

geleitet. Der Perfusionsdruck betrug 25 cm Wassersäule, die Perfusionsrate 55 bis 65 ml/min.

Um eine gute Befeuchtung und Oxygenierung auch von der kontraluminalen Seite des Darmsegmentes garantieren zu können, wurde während der Perfusion angefeuchtetes, erwärmtes Carbogen über einen Teflonschlauch von der oberen in die untere Kammer (2, 3 in Abb. 19) geleitet.

Nach Versuchsende wurden die exakte Länge und das Feuchtgewicht (w.w.) der einzelnen Darmsegmente ermittelt, das Volumen des Resorbates bestimmt und der Anteil von Glucose, Natrium, Kalium und Calcium im Perfusat und Resorbat gemessen.

5.3 Versuchsdurchführung

Die Untersuchungen wurden in zwei Serien vorgenommen. In der ersten Versuchsreihe wurde T-2 Toxin direkt der Perfusionslösung in Konzentrationen von 1 bis 100 $\mu\text{mol/l}$ zugesetzt und sein Einfluß auf die intestinale Resorption von Wasser, Elektrolyten und Glucose geprüft.

In einer zweiten Versuchsreihe erhielten die Ratten zwölf Stunden vor Versuchsbeginn, d.h. vor der Darmentnahme einmalig T-2 Toxin entweder intravenös oder peroral über eine starre Schlundsonde.

Hierzu wurde T-2 Toxin in Ethanol/ 0,9%iger Kochsalzlösung (1/9, v/v) gelöst. Basierend auf der vorausgegangenen Bestimmung der Dosis letalis LD₅₀ (Tremel und Fichtl, 1985) wurden intravenös Konzentrationen von 0,25, 0,5, 0,75 und 1,5 mg/kg Körpergewicht appliziert, oral ein Dosisbereich von 0,5, 1,0 , 1,5 und 3,0 mg/kg Körpergewicht gewählt. Das verabreichte Volumen lag je nach angestrebter Einzelgabe zwischen 0,1 und 0,3 ml pro 100 g Körpergewicht der Ratte. Nach zwölf Stunden wurden die Darmstücke in der beschriebenen Weise präpariert und in die Perfusionsapparatur eingehängt. Bei diesen Versuchen enthielt die Perfusionslösung selbst kein T-2 Toxin mehr.

Für die Untersuchung der intestinalen Verstoffwechselung wurde in einer dritten Versuchsreihe mit Tritium markiertes T-2 Toxin dem Inkubationsmedium in einer niedrigen (2,5 μ mol/l) und einer hohen (100 μ mol/l) Konzentration zugesetzt und Proben aus dem Perfusat und Resorbat einer chromatographischen Analyse unterzogen. Zum Ausschluß einer spontanen, chemischen Umwandlung wurden unter den gegebenen Versuchsbedingungen jeweils rezirkulierende Leerperfusionsen ohne Darmsegment durchgeführt.

5.3.1 Bestimmung der Rektaltemperatur

Kosuri et al. (1971) beschreiben unter oraler Applikation von T-2 Toxin (10 mg/kg Körpergewicht) über 40 Tage einen rektalen Temperaturabfall von durchschnittlich $1,1^{\circ}\text{C}$.

Bereits bei der Präparation der Darmsegmente fand sich zwölf Stunden nach T-2 Toxingabe ein auffallend unterkühlter Intraperitonealraum. Aus diesem Grunde wurden direkt nach Einsetzen der Ethernarkose noch vor Eröffnung des Abdomens der Ratte rektale Körperkerntemperaturmessungen mit einem flexiblen Temperaturmeßfühler der Firma Hewlett Packard durchgeführt. Die Standardmeßtiefe betrug dabei 10 cm.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Abbildung 20 graphisch dargestellt und in Tabelle VIII zusammengefaßt. Dabei zeichnete sich dosisabhängig ein Temperaturverlust von bis zu 5°C ab.

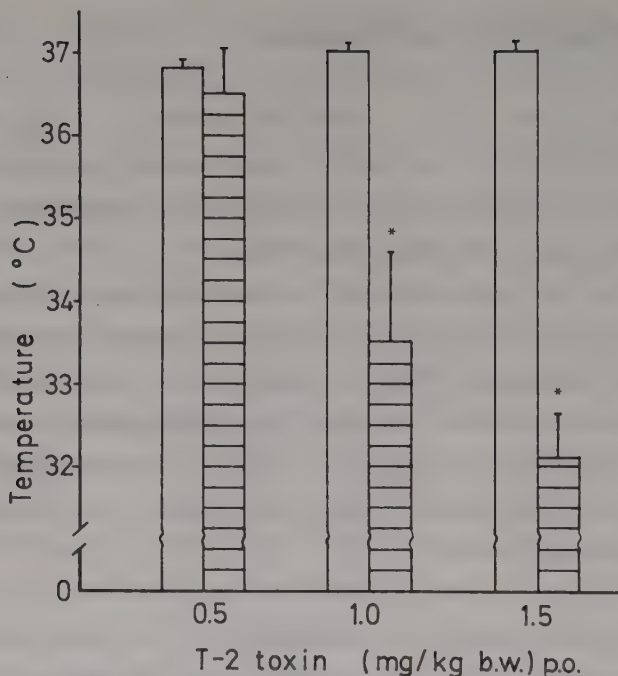


Abb. 20

Einfluß peroral (p.o.) verabreichten T-2 Toxins auf die Körperkerntemperatur der Ratte

Methode: rektale Messung der Temperatur in einer Meßtiefe von 10 cm mittels eines flexiblen Meßfühlers, zwölf Stunden nach Applikation von T-2 Toxin

Die Säulen entsprechen Mittelwerten aus 7 bis 9 Einzelmessungen ($\bar{x} + S.E.$). (s. Tab.VIII im Anhang). * $p < 0,05$
Die offenen Säulen repräsentieren die Kontrolle, die gerasterten Säulen zeigen das Temperaturverhalten der mit T-2 Toxin vorbehandelten Tiere.

5.4 Analytische Methoden

5.4.1 Glucosebestimmung

Die Glucose in Perfusat- und Resorbatproben wurde enzymatisch mit der Glucose-GOD-Perid^R-Methode, Biochemica-Test-Combination der Firma Boehringer Mannheim, nachgewiesen. Die Messung erfolgte bei 578 nm und einer Schichtdicke d von einem Zentimeter an einem Eppendorf Photometer 1101 M.

5.4.2 Elektrolytbestimmung

Der Nachweis der Elektrolyte Natrium, Kalium und Calcium in jeweils 50 μ l des Perfusates und Resorbates erfolgte simultan an einem Eppendorf Flammenphotometer FCM 6341 nach Zugabe von 2,5 ml einer Lithiumverdünnungslösung (5mmol/l).

5.4.3 pH-Wertbestimmung

Die Bestimmung der pH-Werte wurde mit einem WTW-pH-Meter Digi 520 vorgenommen. Zum Eichen der Glaselektrode, Schott, wurden WTW-Eichpuffer benutzt. Die pH-Messungen wurden bei Raumtemperatur durchgeführt.

5.4.4 Radioaktivitätsmessung

Die Messung der β^- -Aktivität der Nuklide ^{14}C und ^3H wurde am Flüssigkeitsszintillationszähler LKB 1215, Rackbeta II, Wallac, Finnland, unter Verwendung von Omniszintisol^R-Cocktail für Szintillationsmessungen der Firma E. Merck, Darmstadt, vorgenommen. Aliquots von jeweils 0,1 ml der zu messenden Probe aus Perfusat- und Resorbatflüssigkeit wurde in Kunststoffzählfläschchen der Firma Packard gegeben und mit 3 ml Szintillator versetzt. Die erhaltenen Impulse (counts per minute = cpm) wurden registriert, gespeichert und nach Ablauf einer Zählzeit von zwei Minuten auf Zerfälle pro Minute (dpm) korrigiert. Die Quenchkorrektur erfolgte über die externe Standardisierung.

5.4.5 Hochdruckflüssigkeitschromatographie

Da T-2 Toxin und seine Metabolite keine nennenswerte Absorption im UV-Spektrum über 210 nm zeigen, wurde tritiummarkiertes T-2 Toxin eingesetzt (Conrady, 1985).

Die HPLC-Anlage selbst setzt sich aus folgenden Geräten zusammen: einer HPLC-Pumpe Constant Flow Pump 600/200 der Firma Gynkotheek sowie einer 12,5 cm langen Trennsäule mit vorgeschalteter 2 cm langer Vorsäule und einem Radioaktivitätsdetektor.

Über eine Dosierschleife wurden 200 μ l der zu analysierenden Probe mit einer Hamiltonspritze direkt ohne gesonderte Aufbereitung in einen Flüssigkeitsstrom aus einem Acetonitril-Wasser-Gemisch (50/50, v/v) eingebracht (mobile Phase), der durch eine Trennsäule gepumpt wird. Die Trennung selbst erfolgte mit einer reversed phase-Säule (Umkehrphase), die Octadecylsilan (C18) mit einer Partikelgröße von 5 μ m als Säulenfüllung enthielt. Zum Schutz vor Verunreinigungen wurde der eigentlichen analytischen Trennsäule eine RP-C18-Vorsäule mit einem Durchmesser von 4,6 mm und einer Korngröße von 10 μ m vorgeschaltet.

Nach der Trennung auf der Analysensäule erfolgte die Detektion des metabolitenhaltigen Eluates in einem HPLC-Radioaktivitätsmonitor LB 503, Berthold, München. Unter Verwendung der Flüssigkeitsszintillatorzelle Z 200 derselben Firma wurde das Substanzgemisch mit Omniszintisol^R, E. Merck, Darmstadt, versetzt, wobei der Szintillatorcocktail mit Hilfe einer speziellen Zumischpumpe (Szintillatormpumpe FMI Pump RP-G 400, Berthold) dem HPLC-Eluat in einem Verhältnis von 3:1 beigelegt wurde.

Die graphische Darstellung und Auswertung der Chromatogramme wurde über einen Apple II Europlus Computer erfaßt.

Bei der gegebenen Laufmittelzusammensetzung wurde selbst T-2 Toxin als lipophilste Substanz mit einer Retentionszeit von 4 min 45 sec noch relativ schnell eluiert. Die Flußrate betrug 1 ml/min. Weitere Zersetzungsprodukte, in Abbildung 19 als zu diesem Zeitpunkt noch nicht identifizierte Metaboliten mit 1 bis 3 gekennzeichnet, finden sich bei 2 min, 2 min 72 sec und 3 min 45 sec.

5.5 Statistische Methoden

Die vorliegenden Daten geben den Mittelwert ($\bar{x}$) aus n Einzelversuchen sowie den mittleren Fehler der Mittelwerte (S.E.) an. Für die Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeit p wurde der t-Test nach Student (Sachs, 1978) herangezogen. Als statistisch signifikant wurden Unterschiede zwischen Kontrolldaten und den an toxinexponierten Darmsegmenten gewonnenen Resultaten mit einem Vertrauensbereich von mehr als 95% ($p < 0,05$) betrachtet.

6. Literaturverzeichnis

Bamburg, J.R., Riggs, N.V., Strong, F.M. (1968)

The structure of toxins from two strains of *Fusarium Tricinctum*.
Tetrahedron 24: 3329 - 3336

Chi, M.S., Robinson, T.S., Mirocha, C.J., Reddy, K.R. (1978)

Acute toxicity of 12,13-epoxytrichothecenes in one-day-old
broiler chicks. Appl. Environ. Microbiol. 35: 636 - 640

Conrady, S. (1985)

Zum Metabolismus von T-2 Toxin. Diplomarbeit, LMU München

Conrady-Lorck, S., Strugala, G., Fichtl, B. (1986)

Investigations on the intestinal metabolism of T-2 toxin, a major
trichothecene mycotoxin. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharm Suppl.
332: R 24

Fisher, R.B., Parsons, D.S. (1949)

A preparation of surviving rat small intestine for the study of
absorption. J. Physiol. 110: 36 - 46

Forth, W. (1987) persönliche Mitteilung

Freeman, G.G., Morrison, R.I. (1948)

Trichothecin: an antifungal metabolic product of trichothecium
roseum Link. Nature 162: 30

Hebel, R., Stromberg, M.W. (1986)

Anatomy and embryology of the laboratory rat. BioMed Verlag,
Wörthsee

Joffe, A.Z. (1974)

Toxicity of *Fusarium poae* and *F. sporotrichioides* and its relation to Alimentary Toxic Aleukia.

in: Mycotoxins (ed.: Purchase, I.F.H.), Elsevier scientific publishing company, Amsterdam

Joffe, A.Z. (1978)

Fusarium poae and *F. sporotrichioides* as principal causal agents of Alimentary Toxic Aleukia.

in: Mycotoxic fungi, mycotoxins, mycotoxicoses (eds.: Wyllie, T.D., Morehouse, L.G.), Vol.3, Marcel Dekker Inc. New York and Basel, pp.: 21 - 86

Kosuri, N.R., Smalley, E.B., Nichols, R.E. (1971)

Toxicologic studies of *Fusarium tricinctum* (corda) Snyder and Hansen from moldy corn. *Am.J.Vet.Res.* 32,11: 1843 -1850

Matsumoto, H., Ito, T., Ueno, Y. (1978)

Toxicological approaches to the metabolites of *Fusaria*. XII. Fate and distribution of T-2 toxin in mice. *Japan.J.Exp.Med.* 48: 393-399

Matsuoka, Y., Kubota, K., Ueno, Y. (1979)

General pharmacologic studies of Fusarenon-X, a trichothecene mycotoxin from *Fusarium* species. *Toxicol.Appl.Pharmacol.* 50:87 - 94

Matsuoka, Y., Kubota, K. (1981)

Studies on mechanism of diarrhea induced by Fusarenon-X, a trichothecene mycotoxin from *Fusarium* species.

Toxicol.Appl.Pharmacol. 57: 293 - 301

Matsuoka, Y., Kubota, K. (1982)

Studies on mechanism of diarrhea induced by Fusarenon-X, a trichothecene mycotoxin from *Fusarium* species; characteristics of increased intestinal absorption rate induced by Fusarenon-X.

J.Pharm.Dyn. 5: 193 - 199

Richter, E., Strugala, G.J. (1985)

An all-glass perfusator for investigations of the intestinal transport and metabolism of foreign compounds in vitro.

J.Pharmacol.Methods 14: 297 - 304

Rummel, W., Stupp, H.F. (1960)

Der Einfluß von Kalium und Calcium auf die Salz-, Glucose- und Wasserresorption des isolierten Dünndarmes.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 240: 79 - 92

Sachs, L. (1978)

Angewandte Statistik. 5.Aufl. Springer Verlag Berlin

Sato, N., Ueno, Y., Enomoto, M. (1975)

Toxicological approaches to the toxic metabolites of Fusaria. VIII. Acute and subacute toxicities of T-2 toxin in cats.

Japan.J.Pharmacol. 25: 263 - 270

Singh, U.S., Ram, G.C., Srivastava, A.K. (1985)

Effect of mycotoxin (T-2 toxin) on catecholamine and Na^+/K^+ -ATPase levels in rat epididymis. Experientia 41: 363 - 364

Strugala, G. (1980)

Tierexperimentelle Untersuchungen über den Mechanismus der intestinalen Resorption von Folsäure und seine Beeinflussung durch Phenobarbital. Dissertation, Bochum

Strugala, G.J., Forth, W. (1984)

Effect of lidocaine on in vitro absorption of glucose in jejunal and ileal segments of the rat.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 326: 283 - 285

Suneja, S.K., Ram, G.C., Wagle, D.S. (1984)

Effects of T-2 toxin on glucose and tryptophan uptake and intestinal mucosal enzymes. Toxicon 22,1: 39 - 43

Tremel, H., Fichtl, B. (1985)

Entwicklung einer Therapie der Vergiftung mit Trichothecen.

I. Akute Toxizität bei der Ratte und ihre Beeinflussung durch Dexamethason. Forschungsbericht aus der Wehrmedizin 85-4, Dokumentationszentrum der Bundeswehr, Bonn

Ueno, Y. (1984)

Toxicological features of T-2 toxin and related trichothecenes.

Fundam.Appl.Toxicol. 4: 124 - 132

Visconti, A., Mirocha, C.J. (1985)

Identification of various T-2 toxin metabolites in chicken excreta and tissues. Appl.Environ.Microbiol. 49: 1246 - 1250

Woronin, M. (1891)

Über das Taumelgetreide in Süd-Ussurien. Botan.Z.49,6: 81 - 93

Yoshizawa, T., Swanson, S.P., Mirocha, C.J. (1980)

T-2 metabolites in the excreta of broiler chickens administrated ³H-labeled T-2 toxin. Appl.Environ.Microbiol. 39: 1172 - 1177

7. Tabellenanhang

Tabelle I

Einfluss von T-2 Toxin auf die Resorption von Wasser, Elektrolyten und Glukose.

Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)

Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

T-2 Toxin wurde zu Versuchsbeginn dem Inkubationsmedium in einer Konzentration von 1 - 100 $\mu\text{mol/l}$ zugegeben.

Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 6 - 10 Einzelversuchen ($\bar{X} \pm \text{S.E.}$).

T-2 Toxin - Konzentration (mol/l)	Volumen d. Serosafl.		Darmlänge		Wasser - resorption		Na ⁺ -Menge (Serosafl.)		K ⁺ -Menge (Serosafl.)		Ca ²⁺ -Menge (Serosafl.)		Gluc.-Menge (Serosafl.)	
	Jejunum	Ileum	Jejunum	Ileum	Jejunum	Ileum	Jejunum	Ileum	Jejunum	Ileum	Jejunum	Ileum	Jejunum	Ileum
	(ml)	(ml)	(cm)	(cm)	(ml/cm·h)	(ml/cm·h)	(mmol/cm·h)	(mmol/cm·h)	(mmol/cm·h)	(mmol/cm·h)	(mmol/cm·h)	(mmol/cm·h)	(μ mol/cm·h)	(μ mol/cm·h)
Kontrolle	1,60 ± 0,33 (7)	1,12 ± 0,27 (7)	9,6 ± 0,3 (7)	10,2 ± 0,6 (7)	0,081 ± 0,014 (7)	0,061 ± 0,017 (7)	10,54 ± 2,01 (7)	0,176 ± 0,044 (7)	0,044 ± 0,012 (7)	0,057 ± 0,009 (9)	4,88 ± 0,46 (9)	3,91 ± 0,72 (7)	3,91 ± 0,72 (7)	3,91 ± 0,72 (7)
10 ⁻⁶	1,35 ± 0,18 (8)	1,13 ± 0,16 (10)	9,6 ± 0,5 (8)	11,4 ± 0,5 (10)	0,071 ± 0,010 (8)	0,052 ± 0,009 (10)	9,34 ± 1,23 (8)	0,132 ± 0,018 (8)	0,029 ± 0,002 (8)	0,048 ± 0,006 (8)	4,20 ± 0,43 (8)	4,23 ± 0,77 (8)	4,23 ± 0,77 (8)	4,23 ± 0,77 (8)
Kontrolle	1,85 ± 0,19 (9)	1,55 ± 0,29 (6)	10,0 ± 0,2 (9)	11,5 ± 0,7 (6)	0,093 ± 0,009 (9)	0,071 ± 0,014 (6)	11,86 ± 1,29 (9)	0,188 ± 0,027 (9)	0,057 ± 0,009 (9)	0,057 ± 0,009 (9)	4,88 ± 0,46 (9)	4,88 ± 0,46 (9)	4,88 ± 0,46 (9)	4,88 ± 0,46 (9)
10 ⁻⁵	1,45 ± 0,15 (8)	1,28 ± 0,21 (9)	9,7 ± 0,7 (8)	10,9 ± 0,4 (9)	0,075 ± 0,008 (8)	0,062 ± 0,011 (9)	9,55 ± 1,05 (8)	0,146 ± 0,025 (8)	0,048 ± 0,006 (8)	0,048 ± 0,006 (8)	4,20 ± 0,43 (8)	4,20 ± 0,43 (8)	4,20 ± 0,43 (8)	4,20 ± 0,43 (8)
Kontrolle	1,67 ± 0,13 (10)	1,49 ± 0,27 (7)	10,9 ± 0,4 (10)	9,9 ± 0,3 (7)	0,077 ± 0,006 (10)	0,077 ± 0,015 (7)	9,50 ± 0,72 (10)	0,151 ± 0,016 (10)	0,035 ± 0,005 (10)	0,035 ± 0,005 (10)	4,31 ± 0,33 (10)	4,31 ± 0,33 (10)	4,31 ± 0,33 (10)	4,31 ± 0,33 (10)
10 ⁻⁴	1,69 ± 0,09 (9)	1,20 ± 0,12 (10)	10,5 ± 0,2 (9)	10,1 ± 0,2 (10)	0,081 ± 0,005 (9)	0,060 ± 0,007 (10)	9,91 ± 0,56 (9)	0,168 ± 0,013 (9)	0,038 ± 0,003 (9)	0,038 ± 0,003 (9)	4,71 ± 0,40 (9)	4,71 ± 0,40 (9)	4,71 ± 0,40 (9)	4,71 ± 0,40 (9)

Tabelle II

Einfluß einer einmaligen intravenösen T-2 Toxingabe auf den Wasser-, Elektrolyt- und Glucosetransfer im Jejunum
 Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)
 Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C
 Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 5 - 10 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$).

T-2 Toxin - Konzentration (mg/kg KG)	Volumen d. Serosafl. (ml)	Darmlänge (cm)	Wasser - resorption (ml/cm·2h)	Na ⁺ -Menge (Serosafl.) (mmol/cm·2h)	K ⁺ -Konz. (Serosafl.) (mmol/l)	Gluc.-Menge (Serosafl.) (μ mol/cm·2h)
Kontrolle	1,50 $\pm 0,11$ (10)	9,6 $\pm 0,1$ (10)	0,157 $\pm 0,012$ (10)	23,6 $\pm 1,5$ (10)	1,88 $\pm 0,03$ (10)	10,43 $\pm 0,66$ (10)
0,25	1,73 $\pm 0,79$ (8)	9,3 $\pm 0,2$ (8)	0,187 $\pm 0,010$ (8)	25,8 $\pm 1,6$ (8)	1,96 $\pm 0,07$ (8)	10,69** $\pm 0,68$ (8)
Kontrolle	1,28 $\pm 0,13$ (5)	9,5 $\pm 0,2$ (5)	0,135 $\pm 0,012$ (5)	18,2 $\pm 1,8$ (5)	1,69 $\pm 0,66$ (5)	9,19 $\pm 0,67$ (5)
0,5	1,35 $\pm 0,12$ (5)	9,8 $\pm 0,4$ (5)	0,138 $\pm 0,012$ (5)	19,5 $\pm 1,9$ (5)	2,16 $\pm 0,16$ (5)	6,48* $\pm 0,76$ (5)
Kontrolle	1,92 $\pm 0,16$ (9)	10,7 $\pm 0,4$ (9)	0,180 $\pm 0,011$ (9)	24,6 $\pm 1,6$ (9)	1,96 $\pm 0,11$ (9)	10,70 $\pm 0,75$ (9)
0,75	1,48 $\pm 0,25$ (7)	10,5 $\pm 1,0$ (7)	0,142 $\pm 0,025$ (7)	21,0 $\pm 3,9$ (7)	2,72* $\pm 0,17$ (7)	5,67** $\pm 0,99$ (7)

*) p < 0,05

**) p < 0,001

Tabelle III

Einfluß einer einmaligen peroralen T-2 Toxingabe auf den Wasser-, Elektrolyt- und Glucosetransfer im Jejunum
Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)
Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C
Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 4 - 8 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$).

T-2 Toxin - Konzentration (mg/kg KG)	Volumen d. Serosafl. (ml)	Darmlänge (cm)	Wasser - resorption (ml/cm·2h)	Na ⁺ -Menge (Serosafl.) (mmol/cm·2h)	K ⁺ -Konz. (Serosafl.) (mmol/l)	Gluc.-Menge (Serosafl.) (μ mol/cm·2h)
Kontrolle	1,63 $\pm 0,11$ (5)	10,2 $\pm 0,3$ (5)	0,160 $\pm 0,009$ (5)	24,1 $\pm 1,8$ (5)	2,15 $\pm 0,85$ (5)	8,45 $\pm 0,54$ (5)
0,5	1,42 $\pm 0,19$ (4)	10,0 $\pm 0,9$ (4)	0,141 $\pm 0,018$ (4)	21,7 $\pm 3,3$ (4)	1,87 $\pm 0,13$ (4)	7,52 $\pm 0,89$ (4)
Kontrolle	1,58 $\pm 0,14$ (5)	10,0 $\pm 0,2$ (5)	0,158 $\pm 0,015$ (5)	22,8 $\pm 2,4$ (5)	2,00 $\pm 0,17$ (5)	7,96 $\pm 0,26$ (5)
1,0	0,99 $\pm 0,03$ (4)	10,3 $\pm 0,3$ (4)	0,097* $\pm 0,006$ (4)	13,8* $\pm 0,8$ (4)	1,72 $\pm 0,06$ (4)	5,31* $\pm 0,76$ (4)
Kontrolle	1,81 $\pm 0,18$ (8)	9,8 $\pm 0,2$ (8)	0,184 $\pm 0,017$ (8)	27,0 $\pm 2,8$ (8)	1,85 $\pm 0,11$ (8)	10,74 $\pm 0,93$ (8)
1,5	0,96 $\pm 0,15$ (7)	10,9 $\pm 0,4$ (7)	0,086** $\pm 0,010$ (7)	12,7** $\pm 1,3$ (7)	2,09 $\pm 0,08$ (7)	4,42** $\pm 0,92$ (7)

*) $p < 0,05$

**) $p < 0,001$

Tabelle IV

Einfluß einer einmaligen hohen T-2 Toxingabe auf den Wasser- und Elektrolyttransfer im Jejunum
 Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)
 Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C

Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 5 - 22 Einzelversuchen ($\bar{X} \pm \text{S.E.}$).

T-2 Toxin - Konzentration (mg/kg KG)	Volumen d. Serosafl. (ml)	Darmlänge (cm)	Wasser - resorption (ml/cm·2h)	Na ⁺ -Menge (Serosafl.) (mmol/cm·2h)	K ⁺ -Konz. (Serosafl.) (mmol/l)
Kontrolle	2,41 ± 0,08 (5)	10,1 ± 0,1 (5)	0,239 ± 0,008 (5)	26,4 ± 1,1 (5)	1,53 ± 0,04 (5)
1,5 (i.v.)	1,15* ± 0,06 (5)	9,7 ± 0,1 (5)	0,120* ± 0,007 (5)	15,2* ± 1,0 (5)	2,24* ± 0,09 (5)
Kontrolle	2,01 ± 0,06 (22)	10,1 ± 0,1 (22)	0,200 ± 0,006 (22)	21,8 ± 0,8 (22)	1,43 ± 0,04 (22)
3,0 (p.o.)	0,96* ± 0,10 (19)	11,0 ± 0,2 (19)	0,087* ± 0,009 (19)	10,7* ± 1,3 (19)	2,09* ± 0,09 (19)

*) p < 0,001

Tabelle V

Einfluß einer einmaligen intravenösen T-2 Toxingabe auf den Wasser-, Elektrolyt- und Glucosetransfer im Ileum
 Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)
 Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C
 Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten ($\bar{X} \pm S.E.$).

T-2 Toxin - Konzentration (mg/kg KG)	Volumen d. Serosafl. (ml)	Darmlänge (cm)	Wasser - resorption (ml/cm·2h)	Na ⁺ -Menge (Serosafl.) (mmol/cm·2h)	K ⁺ -Konz. (Serosafl.) (mmol/l)	Gluc.-Menge (Serosafl.) (μ mol/cm·2h)
Kontrolle	0,78 $\pm 0,07$ (8)	10,3 $\pm 0,1$ (8)	0,075 $\pm 0,007$ (8)	11,6 $\pm 1,0$ (8)	2,06 $\pm 0,11$ (8)	0,40 $\pm 0,12$ (8)
0,25	1,07 $\pm 0,08$ (10)	10,1 $\pm 0,2$ (10)	0,106* $\pm 0,009$ (10)	16,3* $\pm 1,4$ (10)	1,77* $\pm 0,08$ (10)	1,07* $\pm 0,26$ (10)
Kontrolle	1,01 $\pm 0,16$ (7)	10,5 $\pm 0,3$ (7)	0,095 $\pm 0,014$ (7)	15,7 $\pm 2,2$ (7)	2,12 $\pm 0,23$ (7)	0,39 $\pm 0,11$ (7)
0,5	1,37 $\pm 0,28$ (8)	11,6 $\pm 0,5$ (8)	0,114 $\pm 0,021$ (8)	18,6 $\pm 3,3$ (8)	2,96* $\pm 0,22$ (8)	0,95 $\pm 0,23$ (8)
Kontrolle	1,00 $\pm 0,15$ (10)	10,7 $\pm 0,2$ (10)	0,094 $\pm 0,014$ (10)	14,5 $\pm 2,1$ (10)	2,28 $\pm 0,20$ (10)	0,50 $\pm 0,10$ (10)
0,75	0,66 $\pm 0,16$ (6)	11,4 $\pm 0,3$ (6)	0,057 $\pm 0,013$ (6)	8,6 $\pm 2,0$ (6)	2,73 $\pm 0,20$ (6)	0,42 $\pm 0,20$ (6)

*) $p < 0,05$ **) $p < 0,001$

Tabelle VI

Einfluß einer einmaligen peroralen T-2 Toxingabe auf den Wasser-, Elektrolyt- und Glucosetransfer im Ileum
 Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)
 Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C
 Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 3 - 9 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$).

T-2 Toxin - Konzentration (mg/kg KG)	Volumen d. Serosafl. (ml)	Darmlänge (cm)	Wasser - resorption (ml/cm·2h)	Na ⁺ -Menge (Serosafl.) (mmol/cm·2h)	K ⁺ -Konz. (Serosafl.) (mmol/l)	Gluc.-Menge (Serosafl.) (μ mol/cm·2h)
Kontrolle	0,93 $\pm 0,22$ (3)	9,2 $\pm 0,5$ (3)	0,099 $\pm 0,020$ (3)	15,3 $\pm 3,0$ (3)	2,08 $\pm 0,31$ (3)	0,55 $\pm 0,31$ (3)
0,5	1,09 $\pm 0,13$ (7)	9,7 $\pm 0,3$ (7)	0,114 $\pm 0,014$ (7)	17,9 $\pm 2,2$ (7)	2,07 $\pm 0,11$ (7)	0,71 $\pm 0,16$ (7)
Kontrolle	0,82 $\pm 0,13$ (7)	9,7 $\pm 0,1$ (7)	0,086 $\pm 0,014$ (7)	13,4 $\pm 2,2$ (7)	1,94 $\pm 0,11$ (7)	0,67 $\pm 0,21$ (7)
1,0	0,99 $\pm 0,18$ (9)	11,0 $\pm 0,5$ (9)	0,089 $\pm 0,015$ (9)	13,9 $\pm 2,3$ (9)	2,62* $\pm 0,13$ (9)	0,85 $\pm 0,22$ (9)
Kontrolle	0,75 $\pm 0,11$ (8)	10,7 $\pm 0,6$ (8)	0,069 $\pm 0,007$ (8)	10,9 $\pm 0,9$ (8)	1,69 $\pm 0,06$ (8)	0,38 $\pm 0,12$ (8)
1,5	0,81 $\pm 0,18$ (7)	10,3 $\pm 0,4$ (7)	0,083 $\pm 0,022$ (7)	12,8 $\pm 3,3$ (7)	2,83** $\pm 0,22$ (7)	0,74 $\pm 0,21$ (7)

*) p = 0,002

**) p = 0,0001

Tabelle VII

Intestinaler Metabolismus von T-2 Toxin im Jejunum und Ileum der Ratte in vitro
 Methode: Fisher und Parsons (1949) in der Modifikation nach Richter und Strugala (1985)
 Versuchsdauer: 120 Minuten, Temperatur: 37°C
 Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 5 - 10 Einzelversuchen ($\bar{x} \pm S.E.$).

T-2 Toxin - Konzentration (mol/l)	Jejunum		Jejunum		Ileum	
	Volumen d. Serosafl. (ml)	Perfusat	Gesamt- aktivität	Resorbat	Perfusat	Resorbat
		T-2 Toxin Gesamt- aktivität	Gesamt aktivität	T-2 Toxin Gesamt- aktivität	T-2 Toxin Gesamt- aktivität	T-2 Toxin Gesamt- aktivität
2,5 10 ⁻⁶	1,63	889862	182032	34272	812270	218669
	$\pm 0,07$ (8)	± 36474 (10)	± 19457 (7)	± 4216 (7)	± 28984 (8)	± 43086 (6)
						49856 ± 11699 (6)
10 ⁻⁴	1,93	908772	359635	56844	972021	623718
	$\pm 0,19$ (7)	± 14767 (9)	± 23906 (5)	± 16407 (5)	± 31126 (9)	± 71995 (5)
						42021 ± 4462 (5)

Tabelle VIII

Einfluß peroral verabreichten T-2 Toxins auf die Körperkerntemperatur der Ratte

Methode: rektale Messung der Temperatur in einer Meßtiefe von 10 cm, 12 Stunden nach Applikation von T-2 Toxin

Die Zahlenangaben entsprechen Mittelwerten aus 7 - 9 Einzelmessungen ($\bar{x} \pm S.E.$).

T-2 Toxin - Konzentration	Rektal Temperatur
(mg/kg KG)	(°C)
Kontrolle	36,8 $\pm 0,1$ (8)
0,5	36,5 $\pm 0,6$ (7)
Kontrolle	37,0 $\pm 0,1$ (7)
1,0	33,5* $\pm 1,1$ (9)
Kontrolle	37,0 $\pm 0,1$ (8)
1,5	32,1** $\pm 0,6$ (7)

*) $p < 0,05$

**) $p < 0,0001$

Lebenslauf

Persönliches

Name	Gabriele Rieß
Eltern	Dr. med. Eberhard Rieß, Chirurg; Margot Rieß, geb. Woeste
Geburtsdag/-ort	12. September 1961 in Dortmund
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig
Konfession	römisch-katholisch

<u>Schulbildung</u>	1967 - 1971	Grundschule Hagen
	1971 - 1980	neusprachliches Gymnasium Hildegardisschule Hagen
	5 / 1980	Abitur

<u>Universität</u>	WS 80 - SS 82	Studium der Humanmedizin an der Ruhr-Universität Bochum
	8 / 1982	Ärztliche Vorprüfung
	WS 1982/83	Beginn des klinischen Ab- schnittes an der Universität Heidelberg
	SS 83 - SS 86	Technische Universität München
	8 / 1983	I. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
	8 / 1985	II. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
	10/ 1986	III. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
	11/ 1986	Approbation als Arzt
	seit 1.11.86	wissenschaftlicher Mitarbeiter am Walther-Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Ludwig-Maximilians-Univer- sität München

